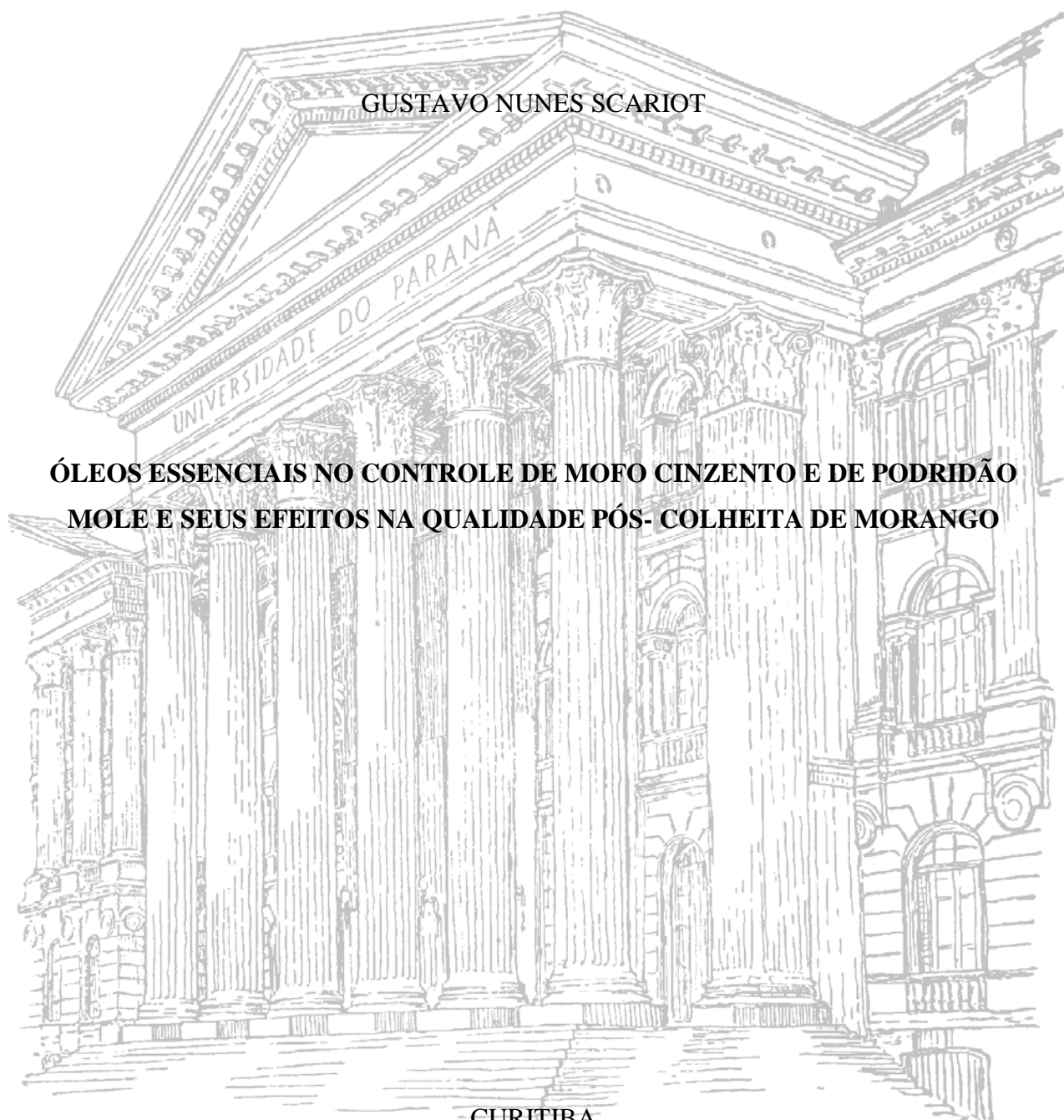


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

GUSTAVO NUNES SCARIOT

**ÓLEOS ESSENCIAIS NO CONTROLE DE MOFO CINZENTO E DE PODRIDÃO
MOLE E SEUS EFEITOS NA QUALIDADE PÓS- COLHEITA DE MORANGO**



CURITIBA

2013

GUSTAVO NUNES SCARIOT

**ÓLEOS ESSENCIAIS NO CONTROLE DE MOFO CINZENTO E DE PODRIDÃO
MOLE E SEUS EFEITOS NA QUALIDADE PÓS-COLHEITA DE MORANGO**

Dissertação apresentada ao 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, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciências.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Francine Lorena Cuquel
Co-orientadora: Dr^a. Luciane Cristina Rozwalka

CURITIBA

2013



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
AGRONOMIA - PRODUÇÃO VEGETAL

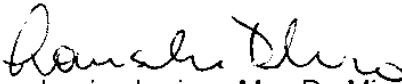


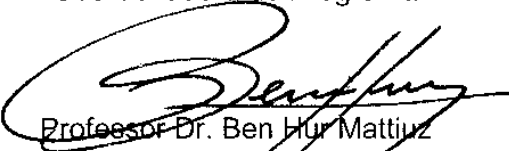
PARECER

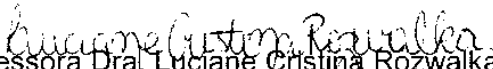
Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Produção Vegetal, reuniram-se para realizar a arguição da Dissertação de MESTRADO, apresentada pelo candidato **GUSTAVO NUNES SCARIOT**, sob o título "**ÓLEOS ESSENCIAIS NO CONTROLE DE MOFO CINZENTO E DE PODRIDÃO MOLE E SEUS EFEITOS NA QUALIDADE PÓS-COLHEITA DE MORANGO**", para obtenção do grau de Mestre em Ciências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Produção Vegetal do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná.

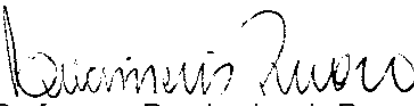
Após haver analisado o referido trabalho e argüido o candidato são de parecer pela "**APROVAÇÃO**" da Dissertação.


Curitiba, 09 de Dezembro de 2013.


Professora Dra. Louise Larissa May De Mio
Coordenadora do Programa


Professor Dr. Ben Hur Mattiuz
Primeiro Examinador


Professora Dra. Luciane Cristina Rozwalka
Segunda Examinadora


Professora Dra. Lucimeris Ruaro
Terceira Examinadora


Professora Dra. Francine Lorena Cuquel
Presidente da Banca e Orientadora

Dedico

A todos que acreditaram que era possível.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pela oportunidade, aos meus pais pelo apoio para a realização dos meus sonhos, aos meus familiares que me cativaram para a área agrônômica. O caminho realizado dos nossos sonhos nunca seria criado somente por nós, existem diversas pessoas que fizeram parte da construção dessa vitória. Meus agradecimentos a minha Orientadora Prof^a. Dr^a. Francine Lorena Cuquel por acreditar que era possível, minha Co-orientadora Dr^a. Luciane Cristina Rozwalka pela sua paciência. Aos amigos que fizeram parte dessa conquista: Jéssica, Bebeto, Zé, Renata, Marcelle, Grasi, Emily, Nomura, Camila, Ana Lucia, Roveda, Mariane, Leozão, Paulão, Paulinho, Lisandro, Koval, Cícero e Túlio. Obrigado aos meus mestres que se dedicaram para a propagação do conhecimento que para nós estudantes. Lucimara, obrigado pela sua paciência e dedicação com nós estudantes da pós-graduação. Um agradecimento especial para minha namorada Aline, que me apoiou em todas as etapas dessa conquista. O caminho mais fácil nem sempre é o mais belo quando se chega ao final, às vezes é preciso coragem e fé para continuar, mas todo esforço é recompensado ao final da sua trajetória!

RESUMO

O morango (*Fragaria x ananassa* Duch) é muito perecível e vulnerável à infecção por fungos, resultando em podridões e perdas econômicas. Muitas práticas agronômicas realizadas atualmente na cultura do morangueiro não atendem a recomendação adequada quanto ao uso de defensivos. Os defensivos registrados para controle de *Botrytis cinerea* são apenas para o uso em na pré-colheita. A inexistência de produtos autorizados para o controle de *Botrytis cinerea* e *Rhizopus stolonifer*, em pós-colheita de morango resulta em grandes perdas para o produtor, levando ao uso incorreto de defensivos. Uma das tendências atuais é a substituição de defensivos sintéticos por métodos alternativos como o uso de óleos essenciais. Dessa forma objetivou-se no presente estudo avaliar efeito do tratamento de pseudofrutos de morango com voláteis de óleos essenciais para controle dos fungos causadores de doenças na pós-colheita de morango e as consequências do uso destes voláteis nas características físico-químicas dos morangos ao longo do armazenamento. O experimento foi conduzido com os óleos essenciais (OE's) de *Mentha arvensis*, *Citrus limon*, *Zingiber officinalis* e *Thymus vulgaris*. Os morangos foram inoculados e a seguir armazenados. A avaliação da eficiência dos voláteis dos OE's testados no controle do desenvolvimento dos fungos foi efetuada mediante a ausência de estruturas fúngicas. A avaliação do efeito dos voláteis do OE de *M. arvensis* sobre a qualidade dos morangos foi efetuada ao longo do armazenamento a 10 ± 1 °C por até 8 dias. Os fungos foram controlados pelos voláteis dos OE's testados e somente a coloração dos morangos foi afetada nas doses mais elevadas ao longo do período de armazenamento.

Palavras-chave: Controle alternativo. *Botrytis cinerea*. *Rhizopus stolonifer*. *Mentha arvensis*. *Fragaria sp*.

ESSENTIAL OILS IN CONTROL OF GREY MOULD AND SOFT ROT AND ITS EFFECTS ON POST-HARVEST QUALITY OF STRAWBERRY

ABSTRACT

The strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch) is very perishable and vulnerable to fungal infection, resulting in decay and economic losses. Many agronomic practices accomplished in strawberry culture do not meet the appropriate recommendation regarding the use of pesticides. Pesticides registered for control of *Botrytis cinerea* are only for use in the pre-harvest. The lack of approved products to control *Botrytis cinerea* and *Rhizopus stolonifer* in postharvest strawberry results in large losses for the producer, leading to incorrect use of pesticides. One current trend is to replace synthetic pesticides by alternative methods such as the use of essential oils. Thus if the present study aimed to evaluate the treatment effect of cashew strawberry with volatile essential oils for control of fungi causing postharvest diseases in strawberry and consequences of using these volatiles on the physicochemical characteristics of strawberries along storage. The experiment was conducted with the essential oils (EO's) *Mentha arvensis*, *Citrus limon*, *Zingiber officinalis* and *Thymus vulgaris*. The strawberries were inoculated and then stored. The evaluation of the efficiency of the volatile EO's tested in the control of fungal growth was effected by the absence of fungal structures. Evaluation of the effect of volatile OE *M. arvensis* on the quality of strawberries was performed during storage at 10 ± 1 °C for up to 8 days. Fungi were controlled by the EO's volatile tested and only the color of strawberries was affected at higher doses throughout the storage period.

Key-words: Alternative control. *Botrytis cinerea*. *Rhizopus stolonifer*. *Mentha arvensis*. *Fragaria sp*.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - Inibição do desenvolvimento de *Botrytis cinerea* (%) em pseudofrutos de morango da cultivar Camarosa, tratados por volatilização com óleos essenciais de menta (*Mentha arvensis*), limão siciliano (*Citrus limon*), gengibre (*Zingiber officinalis*) e tomilho (*Thymus vulgaris*) nas doses 0, 5, 10, 15 e 20 μ L, quatro dias após a inoculação.....32

FIGURA 2 - Inibição do desenvolvimento de *Rhizopus stolonifer* inoculado em morango da cultivar Camarosa, tratados por volatilização com óleos essenciais de menta (*Mentha arvensis*), limão Siciliano (*Citrus limon*), gengibre (*Zingiber officinalis*) e tomilho (*Thymus vulgaris*) nas doses, 0, 5, 10, 15 e 20 μ L quatro dias após a inoculação.....33

FIGURA 3 - Coloração de morango da cultivar Camarosa tratados com diferentes doses de óleo essencial de *M. arvensis* e armazenados por até oito dias.....35

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Perfil cromatográfico dos componentes químicos dos OE's testados, identificados em cromatógrafo a gás acoplado a detector de massas (GCMS-QP2010 Plus, Shimadzu), na ordem *Thymus vulgaris* (0,147 mg), *Citrus limon* (0,136 mg), *Zingiber officinalis* (0,108 mg) e *Mentha arvensis* (0,175 mg).....34

TABELA 2 - Valores de F para cada variável seguido pelo seu nível de significância, separadas pelos seus fatores; doses, datas e sua interação doses x datas.....35

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	11
2.1 CULTURA DO MORANGUEIRO	11
2.2 MOFO CINZENTO E PODRIDÃO MOLE EM PÓS-COLHEITA DO MORANGUEIRO	12
2.3 CONTROLE DO MOFO CINZENTO E PODRIDÃO MOLE.....	13
2.4 PRINCIPAIS ÓLEOS ESSENCIAIS UTILIZADOS NO CONTROLE DE DOENÇAS	14
2.5 QUALIDADE PÓS-COLHEITA	17
REFERÊNCIAS	19
3 ÓLEOS ESSENCIAIS NO CONTROLE DE MOFO CINZENTO E DE PODRIDÃO MOLE E SEUS EFEITOS NA QUALIDADE PÓS-COLHEITA DE MORANGO....	26
3.1 INTRODUÇÃO.....	28
3.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	29
3.3 RESULTADOS	32
3.4 DISCUSSÃO	36
3.5 CONCLUSÕES	38
REFERÊNCIAS	39

1 INTRODUÇÃO

A cultura do morangueiro apresenta importância econômica devido a sua alta rentabilidade por área e por movimentar outros setores como o de insumos, mudas, transportes, embalagens e indústrias processadoras. Sabor do morango e suas propriedades nutritivas o fazem muito apreciado em quase todo o mundo.

No Brasil, a cultura do morangueiro se encontra difundida nas regiões Sul e Sudeste devido ao clima apto para a cultura. Grande parte da produção do morangueiro se encontra em propriedades que praticam a agricultura convencional que, embora utilizem defensivos sintéticos para o controle de doenças, sofrem com perdas de podridões patológicas que podem se expressar tanto no campo quanto na pós-colheita. As doenças consideradas as mais importantes na pós-colheita de morango são o mofo cinzento e a podridão mole, causadas respectivamente pelos fungos *Botrytis cinerea* Pers. e *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.: Fr.) (COSTA; VENTURA, 2006).

No banco de dados do Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários do Ministério da Agricultura (AGROFIT, 2012) encontram-se registrados fungicidas apenas para o controle do *Botrytis cinerea* para a aplicação na cultura do morangueiro, porém apenas em pré-colheita. A inexistência de produtos registrados para mofo-cinzento em pós-colheita e podridão mole em pré e pós-colheita aliado a rápida perecibilidade do pseudofruto apresentam-se como problemas para produtores, culminando com o uso incorreto destes defensivos. Aliado a isso a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2011), publicou no Relatório do Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos de Alimentos que a cultura do morangueiro foi uma das culturas agrícolas que apresentaram maiores resíduos de agrotóxicos. O morango foi um dos alimentos com maior número de amostras contaminadas sendo que 58% das amostras apresentavam teores de resíduos de defensivos acima do permitido além do uso de defensivos não autorizados para a cultura.

O uso incorreto ou indiscriminado caracterizado pela aplicação de defensivos sintéticos não registrados e de super ou sub dosagens e contínuo de fungicidas pode ocasionar problemas como a seleção de fungos patogênicos resistentes (GHINI; KIMATI, 2002) e o desenvolvimento de resistência por populações de patógenos de pós-colheita (REIMANN; DEISING, 2000), contaminação ambiental e crescimento da demanda dos consumidores por produtos livres de resíduos de agrotóxicos (MARQUENIE; LAMMERTYN; GEERAERD, 2002 ; VENZON *et al.*, 2006). Dos fungicidas liberados no

Estado do Paraná para a cultura do morangueiro para controle do mofo cinzento 37,5% são benzimidazóis. A literatura registra casos de resistência de *Botrytis cinerea* aos benzimidazóis, resultando num aumento do número de aplicações ou até mesmo na dose recomendada, com intuito de controlar o patógeno.

O resultado do uso incorreto de defensivos gera uma preocupação entre os consumidores que fazem o consumo de produtos originados de sistemas produtivos que usam defensivos sintéticos em suas práticas agronômicas.

O desafio da fruticultura moderna consiste na capacidade de gerar produtos de qualidade e saudáveis, em conformidade com os requisitos de sustentabilidade ambiental, segurança alimentar e viabilidade econômica, mediante a utilização de tecnologias não-agressivas ao meio ambiente e à saúde humana (ANDRIGUETO; KOSOSKI, 2002). Dessa forma, uma das tendências atuais é a substituição dos defensivos por tratamentos alternativos que aliem segurança alimentar com sustentabilidade da agricultura. Neste contexto, a busca de produtos alternativos aos defensivos ou que utilizados em conjunto propiciem a redução das quantidades aplicadas destes para o controle tornou-se imprescindível.

A exploração da atividade biológica de compostos naturais biologicamente ativos de óleos essenciais (OE) presentes em plantas medicinais, condimentares, ornamentais e florestais, que na natureza desempenham a função de proteção contra fungos, bactérias, vírus, insetos e também contra o ataque de herbívoros ou, ainda, como indutores de resistência, apresentam-se como uma possibilidade. Alguns desses tratamentos alternativos estão sendo praticados com o uso dos OE que apresentam em sua composição química compostos com ação antifúngica.

Objetivou-se neste estudo, avaliar a eficiência de OE's de *Mentha arvensis*, *Citrus limon*, *Zingiber officinalis* e *Thymus vulgaris* no controle de *Botrytis cinerea* e *Rhizopus stolonifer*, e nas características qualitativas de morangos da cultivar Camarosa.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 CULTURA DO MORANGUEIRO

O interesse no cultivo do morangueiro é justificado pela alta rentabilidade proporcionada quando comparada a outros cultivos (REICHERT; MADAIL, 2003; THIMÓTEO *et al.*, 2006). O interesse comercial de diversos países pelo morangueiro é grande, devido alguns atributos que o pseudofruto possui, entre eles está a sua coloração vermelho-brilhante intensa, odor envolvente, textura macia e sabor levemente acidificado, assim como suas propriedades nutritivas, que fazem do morango um produto muito apreciado pelos consumidores (GIMENEZ; ANDRIOLO; GODOI, 2008; CUNHA JUNIOR *et al.*, 2012).

Entre os países produtores o que mais se destaca são os Estados Unidos, sendo o maior produtor mundial da cultura do morangueiro, seguido pela China, Espanha, Japão, Polônia e México. O Brasil é 54^o no ranking, o maior importador foi o Canadá no ano de 2006 com um volume de 75.000 toneladas da fruta (AGRIANUAL, 2008; FAO, 2008).

No Brasil a cultura do morango encontra-se difundida nas regiões Sul e Sudeste, onde se produz morango para consumo *in natura* (70%) e para a industrialização (30%) (RADMANN *et al.*, 2006). O cultivo atende, principalmente, o mercado *in natura* e à industrialização na forma de polpa, geleias, sucos e para adição em outros alimentos (PAGOT; HOFFMANN, 2003).

O cultivo do morangueiro no Paraná foi em 570 ha em 2011, sendo que 34,56% do cultivo está concentrado na região metropolitana de Curitiba (SEAB, 2011). A comercialização do morango no CEASA de Curitiba PR foi a maior do Estado e obteve uma elevação expressiva nos últimos anos, com mais de 75% de aumento nas quantidades comercializadas (CEASA, 2012).

O fotoperíodo e a temperatura afetam diretamente a cultura do morangueiro (SANTOS; MEDEIROS, 2003). Os decréscimos de ambos causam o estímulo ao florescimento e frutificação (FILGUEIRA, 2008).

As cultivares que respondem às alterações do fotoperíodo são classificadas como de dias curtos, ou seja, seu estímulo à floração ocorre a partir de dias com menos de 14 horas de luz e temperaturas abaixo de 15 °C (ALMEIDA, 2006). As cultivares classificadas como neutras ao fotoperíodo, não seguem este comportamento fisiológico. Estas apresentam floração e frutificação durante todo o ano, desde que as temperaturas estejam entre 10 e 28 °C. Estas

cultivares permitem a produção de morangos e oferta à comercialização durante o período da entressafra, em regiões de verões amenos (SANTOS, 1993).

As características básicas da cultivar Camarosa avaliada neste trabalho segundo (SHAW, 2004) são:

A cultivar Camarosa é planta de dias curtos; planta vigorosa com folhas grandes e coloração verde escura; ciclo precoce e com alta capacidade de produção. Os morangos são de tamanho grande; epiderme vermelha escura a polpa é firme e com coloração interna vermelho escuro brilhante e uniforme e sabor subácido. É suscetível à mancha de micosfarela (*Mycosphaerella fragariae*), à antracnose (*Colletotrichum fragariae* e *Colletotrichum acutatum*) e ao mofo cinzento (*Botrytis cinerea*).

A popularidade da cultivar Camarosa ocorre devido a sua alta produtividade, de acordo com Resende *et al.* (2010) essa cultivar se destacou das demais cultivares testadas, tanto em túnel baixo, quanto em túnel alto.

O morango por possuir altos teores de água no tecido, açúcares e ácidos, é um substrato ideal à proliferação de alguns organismos patogênicos na pós-colheita (LIMA, 1999). As doenças relatadas pela literatura que interferem diretamente na aparência do pseudofruto são causadas pelos agentes patogênicos: *Colletotrichum gloeosporioides*, *C. acutatum*, *C. fragariae*, *Sphaerotheca macularis*, *Phomopsis obscurans*, *Botrytis cinerea* e *Rhizopus stolonifer* (EMBRAPA, 2005).

2.2 MOFO CINZENTO E PODRIDÃO MOLE EM PÓS-COLHEITA DO MORANGUEIRO

As doenças mais importantes na pós-colheita de morango são o mofo-cinzento causado pelo fungo *Botrytis cinerea*, e a podridão mole causada pelo fungo *Rhizopus stolonifer* (COSTA; VENTURA, 2006).

Para o controle do mofo-cinzento é necessária a aplicação de fungicidas desde o período de florescimento da planta, pois o fungo pode permanecer latente no fruto, podendo causar danos na pós-colheita (COSTA; VENTURA, 2006). Os conídios são facilmente disseminados pelo vento e pela água, podendo sobreviver saprofiticamente em matéria orgânica quando não há hospedeiros, ou sobreviver por escleródios ou micélios dormentes em

restos de cultura, já que este patógeno pode viver saprofiticamente em diversos hospedeiros. De acordo com Dias (1999), o mofo-cinzento provoca danos graves para a produção de morango em todas as áreas do mundo, chegando a reduzir em até 70% da produção.

A infecção do *Botrytis cinerea* geralmente inicia-se em tecido debilitado, especialmente pétalas senescentes, para posteriormente infectar os tecidos saudáveis do fruto. A doença pode destruir botões florais e frutos verdes, no entanto, na maioria das vezes as infecções permanecem latentes e os sintomas se manifestam somente no início do amadurecimento dos frutos. Em frutos verdes, os sintomas são caracterizados pela presença de pequenas lesões marrons levemente depressivas. Em frutos maduros, essas lesões tornam-se recobertas por um crescimento acinzentado constituído por estruturas do patógeno, que rapidamente tomam toda a superfície do fruto. Com a evolução dos sintomas, os frutos podem apodrecer completamente ou ainda assumir a forma de mumificados (TÖFOLI & DOMINGUES, 2005)

A podridão mole é uma típica doença de pós-colheita, na maior parte dos casos, ocorre devido a fermentos causados nos frutos e pela suscetibilidade dos tecidos vegetais durante o processo de amadurecimento (COSTA & VENTURA, 2006). A origem da infecção ocorre devido aos frutos conterem na sua superfície, o inóculo (esporângio do fungo). Os sintomas são muito característicos; os frutos maduros se apresentam com um aspecto semelhante a podridão mole, aquosa, com o suco escorrendo para fora. Na superfície há desenvolvimento abundante de micélios, esporangióforos, e esporângios do fungo agente causal (TANAKA; BETTI; KIMATI, 1997). A podridão mole pode se disseminar rapidamente pelo contato do suco que escorre dos frutos infectados para os sadios dentro das embalagens. Os frutos atacados apresentam alterações na cor e na consistência e posteriormente se verifica sobre eles um crescimento micelial denso e branco, entremeado com esporângios e esporangióforos escuros. O suco liberado pelos frutos infectados dissemina o inóculo para os frutos sadios após a colheita.

2.3 CONTROLE DO MOFO CINZENTO E PODRIDÃO MOLE

Para reduzir problemas de doença na pós-colheita causados por fungos, faz-se o uso de tratamentos químicos, porém esse ato pode causar alguns problemas como: espécies de fungos desenvolvem resistência aos fungicidas, contaminação ambiental e crescimento demanda dos consumidores por produtos livres de resíduos de agrotóxicos (MARQUENIE; LAMMERTYN; GEERAERD, 2002; VENZON *et al.*, 2006). Dos fungicidas liberados no

Estado do Paraná para a cultura do morangueiro para controle do mofo cinzento 37,5% são benzimidazóis (SEAB, 2013). A literatura registra casos de resistência de *Botrytis cinerea* aos benzimidazóis, resultando um aumento do número de aplicações ou até mesmo da dose recomendada, com intuito de controlar o patógeno.

Os benzimidazóis usados para o controle fúngico, inibem a síntese da beta-tubulina e consequentemente não há formação dos microtúbulos, o que interrompe a migração dos cromossomos durante a mitose e meiose, não ocorrendo as divisões celular e nuclear essenciais ao crescimento micelial e produção de esporos (HASSAL, 1990). Este modo de ação pode ser considerado muito específico e, portanto, fácil de ser superado pelo patógeno. O mecanismo de resistência aos benzimidazóis é descrito como devido a uma alteração do sítio de ação, na β -tubulina (BRENT, 1995).

Para o controle químico do mofo cinzento há oito fungicidas registrados para a cultura do morango no campo, já para a podridão mole não há registros de fungicidas para a cultura. Para ambas as doenças não há defensivos registrado para o uso na pós-colheita (AGROFIT, 2013).

A cultura do morangueiro é uma das culturas agrícolas que mais apresentou resíduos de agrotóxicos, no ano de 2011. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2011), publicou no Relatório do Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos de Alimentos que o morango era um dos alimentos com maior número de amostras contaminadas, 58% das amostras apresentavam teores de resíduos de defensivos acima do permitido e uso de defensivos não autorizados para a cultura.

Uma das tendências atuais é a substituição dos defensivos convencionais por tratamentos alternativos que aliem segurança alimentar com sustentabilidade da agricultura (BOWER, 2007).

2.4 PRINCIPAIS ÓLEOS ESSENCIAIS UTILIZADOS NO CONTROLE DE DOENÇAS

Dentre os métodos de controle alternativo de doenças em plantas utilizados com sucesso no Brasil. Entre eles: controle físico (solarização do solo e coletor solar para desinfestação de substrato), controle biológico (*Trichoderma* para patógenos habitantes do solo) ; premunização (para o controle do mosaico da abobrinha e da tristeza-dos-citros) (BETTIOL; GHINI, 2004).

Os óleos essenciais (OE's) podem ser classificados como um possível controle

alternativo para doenças, de acordo com Santos *et al.* (2011), adicionalmente muitos OE's apresentam atividades antifúngicas, e seus principais compostos isolados dos OE's são terpenos e seus derivados oxigenados, terpenoides, incluindo os compostos fenólicos, que poderão estar atuando nos patógenos.

Os OE's são utilizados há séculos como flavorizantes pelo fato de serem naturais e biodegradáveis, geralmente apresentam baixa toxicidade aos mamíferos e por poderem atuar sobre várias moléculas-alvo ao mesmo tempo (FIGUEIREDO *et al.*, 2008).

A caracterização dos compostos presente nos OE's pode ser feita por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas, sendo que alguns OE podem apresentar mais de 60 compostos diferentes, em alguns casos há um componente majoritário, representando mais de 85% do total (GALINDO *et al.*, 2010).

O óleo essencial da *Mentha arvensis* L. é constituído principalmente por monoterpenos, atribuindo-se a estes as funções de defesa da planta contra herbívoros, agentes antimicrobianos e alelopáticos (CARDOSO *et al.*, 2001). O mentol e a mentona são os principais componentes do óleo e os de maior valor econômico, embora sejam conhecidos mais de 200 componentes presentes nos óleos do gênero *Mentha* (TAVISH *et al.*, 2002).

Singh *et al.* (1992) verificaram a ação do óleo de *M. arvensis* sobre 23 espécies de fungos, entre eles *Alternaria* sp, *Fusarium moliniforme* e *F. solani* e observaram inibição de 100% do crescimento micelial, a partir de 2.000 mg mL⁻¹, afirmando que este óleo poderia ser usado no controle de doenças de plantas. Pereira *et al.* (2006), utilizando óleo essencial de menta, observaram inibição do desenvolvimento micelial de *Aspergillus niger* e *A. flavus* nas concentrações 1500 e 2000 mg mL⁻¹, respectivamente.

Os principais elementos voláteis identificados no óleo essencial da *Mentha spp.* são mentol (33-60%), mentona (15-32%), isomentona (2-8%), 1,8 cineol (eucaliptol) (5-13%), acetato de metila mentil (2-11%) mentofurana (1-10%), limoneno (1-7%), β-mirceno (0,1-1,7%), β-cariofileno (2-4%), pulegona (0,5- 1,6%) e carvona (1%) (PITTER *et al.*, 1998).

O monoterpeno limoneno é o principal constituinte de vários OE's do gênero *Citrus*. Segundo Singh *et al.* (2010) esse monoterpeno possui efeito anti-inflamatório, antioxidante e antifúngico. De acordo com Sun (2007) os principais componentes do OE de limão siciliano são dois monoterpenos, o Limoneno e o β-Pineno.

Sharma e Tripathi (2006) definiram a necessidade de no mínimo 400 μL.L⁻¹ de limoneno para ocorrer a completa inibição da germinação de esporos de *P. expansum*. Outros estudos demonstraram que muitos microrganismos são resistentes a concentrações acima de 2% de limoneno, inclusive fungos e leveduras (BICAS; PASTORE. 2007).

De acordo com Chaves *et al.* (2012) o OE de gengibre extraído do rizoma, possui como componentes majoritários geranial (26,09%) e neral (17,13%). Em outro estudo, os componentes majoritários do OE de gengibre foram geranial (25,06%), neral (16,47%), 1,8-cineol (10,98%), geraniol (8,51%), acetato de geranila (4,19%) e o canfeno (4,30%) (ANDRADE *et al.*, 2012). Shukla *et al.* (2009), demonstraram a atividade fungitóxica do OE de *Lippia alba* e de seus constituintes majoritários geranial e neral sobre diversos fitopatógenos, entre esses *Alternaria alternata* que teve inibição de 100% do seu crescimento micelial pelo geranial e de 79,4% pelo neral e *Fusarium oxysporum* que teve seu crescimento micelial inibido em 96,6% e 82,8% pelo geranial e neral, respectivamente.

Estudos demonstraram que o OE de tomilho possui atividades antifúngicas, pesticidas e antibacterianas, relatado por diversos investigadores. (JAKIEMIU *et al.*, 2010)

Segundo Jakiemiu *et al.* (2010) o OE de tomilho apresentava o timol como composto majoritário com cerca de 54,00 a 57,50%, seguidos pelo *p*-cimeno variando de 12,00 a 21,00%. Para o composto *y*-terpineno variou de 5,00 a 7,00%. De acordo com Borges *et al.* (2012), o componente majoritário do OE de tomilho extraídos de plantas frescas foi o berneol com 66,66%, seguido pelo timol 13,41% e linalol 3,24%. Essa diferença encontrada entre os autores pode ser atribuídas a variabilidade genética da planta.

Componentes voláteis presentes nos OE's de tomilho, mostraram inibição total do crescimento de *Botrytis cinerea* e *Alternaria arborescens* (PLOTTO *et al.*, 2003). O OE de tomilho provou ser o inibidor eficaz quando diluído 1000 $\mu\text{l. L}^{-1}$ em meio de crescimento *in vitro*, para os fungos *Lasiodiplodia theobromae*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Alternaria citrii*, *Botrytis cinerea* and *Penicillium digitatum* inibindo totalmente todos os patógenos testados (COMBRINCK *et al.*, 2011)

Os agentes causais do mofo cinzento e podridão mole são organismos aeróbicos que utilizam o O_2 como acceptor final de elétrons. Esta molécula é pouco reativa, porém tem a capacidade de originar estados excitados reativos como radicais livres e derivados (SCANDALIOS, 1993). Ao longo da cadeia respiratória o O_2 é completamente reduzido por quatro elétrons gerando duas moléculas de água (H_2O). Os OE's podem interferir no processo respiratório dos organismos aeróbicos, pois atuam diretamente nas membranas mitocondriais alterando as reações normais do processo respiratório. Uma pequena parcela dos elétrons escapa da cadeia respiratória, isso resulta em uma redução parcial de oxigênio molecular, originando a produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) em diferentes formas: radical hidroxila (OH), ânion superóxido (O_2^-), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$). Essas moléculas são subproduto das funções metabólicas normais e são tóxicas para os

organismos aeróbicos (MITTLER, 2002; ÉAUX, 2007). Além de ser subproduto das funções metabólicas normais, a ERO podem ser geradas com a destruição do sistema de transporte de elétrons, que podem ser geradas pela ação dos voláteis de OE na mitocôndria dos patógenos causadores do mofo cinzento e podridão mole. O fluxo de elétrons pode ser alterado em organelas com alta atividade metabólica ou com fluxo de elétrons sustentado como as mitocôndrias e cloroplastos (BREUSEGEM *et al.*, 2001).

Em eucariotos, as mitocôndrias produzem peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e superóxido ($O_2\cdot$) que reagem com ferro para gerar intermediários reativos, como o radical hidroxila (OH), que é altamente prejudicial ao DNA mitocondrial. O DNA mitocondrial danificado inibe a expressão de proteínas de transporte de elétrons que conduzem à acumulação de ERO (VAN HOUTEN *et al.*, 2006).

2.5 QUALIDADE PÓS-COLHEITA

Os teores de sólidos solúveis (SS) em frutos maduros podem variar muito entre as diversas cultivares de morango como demonstram os resultados obtidos ao longo dos anos, segundo Plochanski (1986), o SS pode variar de 7,2 a 9,6 °Brix. Shamaila *et al.* (1992), observaram que em cinco diferentes cultivares de morango, os valores de SS variavam entre 7,7 e 9,7 °Brix. Para Malgarim *et al.* (2006), a média dos valores de SS de morangos da cultivar Camarosa recém colhidos para SS na cultivar Camarosa foi de 7,35 °Brix.

O aumento do teor de sólidos solúveis, de água livre e das pectinas, é acompanhado pela redução de alguns componentes fenólicos e protopectínicos, que tornam os frutos mais sensíveis ao ataque de microorganismos, principalmente de fungos causadores de podridões (NURNBERGER & BRUNNER, 2002).

Foram identificados em frutos de morango, mais de 30 ácidos orgânicos, com predominância dos ácidos cítrico e málico em concentrações de 0,92 e 0,09 por 100g de fruto (GREEN, 1971; AVIGDORI-AVIDOV, 1986; MANNING, 1993).

Cardoso *et al.* (2012) demonstraram que a acidez titulável (AT) média da cultivar Diamante ao longo do armazenamento, foi de $1,06 \text{ mg} \times 100 \text{ g}^{-1}$ de polpa, valor superior aos $0,6 \text{ mg} \times 100 \text{ g}^{-1}$, em morangos a cultivar Camarosa (MALGARIM *et al.*, 2006).

A relação SS/AT (*ratio*) é uma característica importante para a aceitação do consumidor, pois há uma melhor percepção do *flavor* da fruta. O maior valor de *ratio* foi de 13,50, encontrado na cultivar Camp-Dover. Segundo Brackmann *et al.* (2011) as cultivares

testadas Guenoa e clone 121,4 obtiveram valores de *ratio* 13,67 e 12,83 respectivamente, sugerindo que esses valores resultaram em uma boa aceitação do fruto pelo consumidor.

A determinação do pH das frutas é um parâmetro importante pois os consumidores preferem para o consumo *in natura* um morango pouco ácido, enquanto que para indústria são utilizados morangos com valores de pH baixos. No geral o pH do morango é inferior a 4,5, o que é desejável pois reduz o crescimento de microrganismos (VIEITES *et al.*, 2006).

Segundo Shamaila *et al.* (1992), o pH de frutos de morango apresentou variações entre 3,18 e 3,49. Nunes *et al.* (1995) obtiveram valores de pH para a cultivar Oso Grande 3,50, já Montero *et al.* (1996) observaram valores de pH superiores para a cultivar Chandler, que variavam entre 3,7 e 4,3.

A coloração é utilizada como parâmetro, para seleção de muitos produtos e pode ser um indicativo de qualidade. Para medir a variação da cor e garantir a qualidade do produto final, faz-se necessário o uso de aparelhos com alta precisão, como colorímetros ou espectrofotômetros. O uso destes aparelhos é importante, pois eliminam a subjetividade visual do consumidor (CHITARRA & CHITARRA, 2005; MARTINAZZO, 2008; MORITIZ, 2011). As diferenças de coloração podem ser expressas pelas distâncias geométricas regulares entre os eixos L*, a*, b*, obtidos em leitura direta no colorímetro. O eixo L* define a claridade ou luminosidade. A coordenada a*, define a variação do verde-vermelho e a coordenada b* do azul-amarelo e o ΔE é utilizado para demonstrar o total de diferença de cor é calculado mediante a equação: $\Delta E = (\Delta L^{2*} + \Delta a^{2*} + \Delta b^{2*})^{1/2}$ (RAMPILLI; ANDREINI, 1992; GONÇALEZ *et al.*, 2001).

REFERÊNCIAS

AGRIANUAL – ANUÁRIO DA AGRICULTURA BRASILEIRA. **Morango: Balanço Mundial**. São Paulo, p. 419, 2008.

AGROFIT: Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, **Coordenação Geral de Agrotóxicos e Afins**, 2012. Disponível em <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: julho de 2013.

ALMEIDA, D. P. F. **Manual de culturas hortícolas: Rosáceas – morango**. v. II, Lisboa: Editorial Presença, p. 360, 2006.

ANDRADE, M. A.; CARDOSO, M. G; BATISTA L, R.; MALLEY, A. C. T; MACHADO, S. M. F. Óleos essenciais de *Cymbopogon nardus*, *Cinnamomum zeylanicum* e *Zingiber officinale*: composição, atividades antioxidante e antibacteriana **Revista Ciência Agronômica** v. 43, n. 2, Fortaleza Apr./June 2012.

ANDRIGUETO, J. R.; KOSOSKI, A. R. **Marco legal da produção integrada de frutas do Brasil**. Brasília: MAPA/SARC, p. 60, 2002.

ANVISA: **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. Disponível em <http://portal.anvisa.gov.br/wps/content/Anvisa+Portal/Anvisa/Inicio/Agrotoxicos_e_Toxicologia/Assuntos_de_Interesse/Programa_de_Analise_de_Residuos_de_Agrotoxicos_em_Alimentos>. Acesso em: março de 2012.

AVIGDORI-AVIDOV, H. Strawberry. In: MONSELISE, S.P. (Ed.) **CRC Handbook of Fruit Set and Development**, Boca Raton: CRC Press, p. 419-448, 1986.

BETTIOL, W. ; GHINI, R. Métodos alternativos usados com sucesso no Brasil para o controle de doenças de plantas. In: STADNICK, M.J. ; TALAMINI, V. (Eds.) **Manejo Ecológico de Doenças de Plantas**. Florianópolis, SC. CCA/UFSC, p. 143-157, 2004.

BICAS, J.L.; PASTORE, G.M. Isolation and screening of d-limoneneresistant microorganisms. **Brazilian Journal of Microbiology** 38:563-567, 2007.

BORGES, A.M ;PEREIRA, J. ; CARDOSO, M.G. ; ALVES, J.A.; LUCENA, E.M.P. Determinação de óleos essenciais de alfavaca (*Ocimum gratissimum* L.), orégano (*Origanum vulgare* L.) e tomilho (*Thymus vulgaris* L.). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 14, n. 4, p.656-665, 2012.

BOWER, C. Postharvest handling, storage, and treatment of fresh market berries. In: ZHAO, Y. **Berry fruit: value-added products for health promotion**. Boca Raton: CRC, p. 262-288, 2007.

BRACKMANN, A.; PAVANELLO, E. P.; VANDERLEI BOTH, V.; JANISCH, D. I.; SCHMITT O. J.; GIMÉNEZ, G. Avaliação de genótipos de morangueiro quanto à qualidade e potencial de armazenamento. **Revista Ceres** (Impr.) v. 58 n. 5 Viçosa Sept./Oct, 2011.

BRENT, J. Fungicide resistance in crop pathogens: how can it be managed? Brussels: FRAC Monograph 1., 1995.

BREUSEGEM, F. V.; VRANOVÁ, E.; DAT, J.F.; INZÉ, D. The role of active oxygen species in plant signal transduction. **Plant Science**, v. 161, p. 405-414, 2001.

CARDOSO, M. G.; SHAN, A. Y. K. V.; PINTO, J. E. B. P.; FILHO, N. D. ; BERTOLUCCI, S. K. V., **Metabólitos secundários vegetais: visão geral química e medicinal**. 1. Ed. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2001.

CEASA – **Centrais de abastecimento do Paraná SA**. Informações sobre Produtos Hortigranjeiros. Disponível em < <http://www.ceasa.pr.gov.br> > . Acesso em: março de 2012.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio**. Lavras: UFLA. 2ª Ed, p. 196 - 197; p. 544 - 547; p. 673 - 677, 2005.

COMBRINCK, S.; REGNIER, T.; KAMATOU, G.P.P. In vitro activity of eighteen essential oils and some major components against common postharvest fungal pathogens of fruit. **Industrial Crops and Products**, v.33, p. 344-9, 2011.

COSTA, H.; VENTURA, J. A. Doenças do morangueiro: diagnóstico e manejo. In: BALBINO, J. M. S. (Ed.). **Tecnologias para produção, colheita e pós-colheita de morangueiro**. Vitória: Incaper, p. 41-57, 2006.

CUNHA JUNIOR L. C.; JACOMINO A. P.; OGASSAVARA F. O.; TREVISAN M. J.; PARISI M. C. M. Armazenamento refrigerado de morango submetido a altas concentrações de CO₂. **Horticultura Brasileira** v. 30 p. 688-694, 2012.

DIAS, M. S. C, Doenças do Morangueiro. Morango: Tecnologia Inovadora. **Informe Agropecuário**. EPAMIG. Belo Horizonte- MG. v.20 n.198 maio/jun. p. 69-74, 1999.

EMBRAPA. Sistema de produção do Morango-Nutrição, calagem e adubação. 2005. Acesso em: agosto de 2012.

ÉAUX, B.; TOLEDANO, M.B. Ros as signalling molecules: mechanisms that generate specificity in ROS homeostasis. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 8, p. 813 – 824, 2007.

FAO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. FAOSTAT: Agricultural Production / strawberry. 2008. Disponível em: <<http://faostat.fao.org>>. Acesso em: 20 julho 2013.

FIGUEIREDO, AC *et al.* Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 23, n. 4, p. 213-26, 2008.

FILGUEIRA, F. A. R. **Novo Manual de Olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. São Paulo: UFV, p. 421, 2008.

GALINDO, LA, PULTRINI, AM, COSTA, M. Biological effects of *Ocimum gratissimum* L. are due to synergic action among multiple compounds present in essential oil. **Journal of Natural Medicines**, v. 64, n. 4, p. 436-41, 2010.

GIMENEZ, G.; ANDRIOLO, J.; GODOI, R. Cultivo sem solo do morangueiro. **Ciência Rural**. v. 38, n 1, 2008.

GHINI, R.; KIMATI, H. **Resistência de fungos a fungicidas**. 2. ed. Jaguariúna: EMBRAPA Meio Ambiente, p.78, 2002.

GONÇALEZ, J.C; JANIN, G; SANTORO, A.C.S; COSTA, A.F; VALLE, A. T. Colorimetria quantitativa: uma técnica objetiva de determinar a cor da madeira. **Brasil Florestal**. Brasília-DF. n. 72, p. 47 - 58, 2001.

GREEN, A. Soft fruits. In: HULME, AC. (Ed.) **The biochemistry of fruits and their products**, London: Academic Press, v. 2, cap.II, p. 375-410, 1971.

HASSAL, A. The biochemistry and uses of pesticides: struture, metabolism, mode of action and uses in crop protection. London. Mac Millan Press. 1990.

JAKIEMIU, E.A.R., Estudo da composição e do rendimento do óleo essencial de tomilho (*Thymus vulgaris* L.), Semina: **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, n. 3, p.683-688, 2010.

LIMA, L. C. O. Qualidade, Colheita e Manuseio Pós-colheita de Frutos de Morangueiro. Morango: **Tecnologia Inovadora**. Informe Agropecuário. EPAMIG. Belo Horizonte- MG. vol. 20 - n. 198 maio/jun. p. 80 – 83, 1999.

MANNING, K. Soft fruit. In: SEYMOUR, G. B.; TAYLOR, J. E.; TUCKER, G. A. **Biochemistry of fruit ripening**. London: Chapman & Hall, cap. 12, p. 73-77, 1993.

MALGARIM, M. B; CANTILLANO, R. F. F.; COUTINHO, E. F. Sistemas e condições de colheita e armazenamento na qualidade de morangos cv. Camarosa. **Revista Brasileira de Fruticultura**. Jaboticabal - SP, v. 28, n. 2, p. 185-189, Agosto 2006.

MARQUENIE, D.; LAMMERTYN, J.; GEERAERD, A. H.; Inactivation of conidia of *Botrytis cinerea* and *Monilinia fructigena* using UV-C and heat treatment. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 74, p. 27 -35, 2002.

MARTINAZZO, A.P; CORRÊA, P.C; MELO, E.C; CARNEIRO, A. P. S. Avaliação colorimétrica de folhas secas de *Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf durante o armazenamento em diferentes embalagens. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**. Campina Grande, v. 10. n. 2, p. 131 - 140, 2008.

MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in Plant in Science**, v. 9, p. 405-410, 2002.

MONTERO, T. M.; MOLLA, E. M.; ESTEBAN, R. M.; LOPEZ-ANDREU, F. J. Quality attributes of strawberry during ripening. **Scientia Horticulturae**, v. 65, n. 4, p. 239-250, 1996.

MORITIZ, A. R. **Existe cor em nossas vidas**. A colorimetria aplicada em nossos dias.1ª. Ed. Braseq. Campo Limpo Paulista. p. 11 - 12; p. 150 - 151, 2011.

NUNES, M. C. N.; BRECHT, J. K.; MORAIS, A. M. M. B.; SARGENT, S. A. Physical and chemical quality characteristics of strawberries after storage are reduced by short delay to cooling. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 6, p. 17-28, 1995.

NURNBERGER, T.; BRUNNER, F. Innate immunity in plants and animals: emerging parallels between the recognition of general elicitors and pathogen-associated molecules. **Current Opinion in Plant Biology**, Cambridge, v.5, n.4, p.318-324, 2002.

PAGOT, E.; HOFFMANN, A. Pequenas frutas. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO SOBRE PEQUENAS FRUTAS, 1., 2003, Vacaria, RS. **Anais**. Bento Gonçalves, RS: Embrapa Uva e Vinho, 2003, p. 7-15, (Documento 37).

PEREIRA, M. C.; VILELA, G. R.; COSTA, L. M. A. S. Inibição do desenvolvimento fúngico através da utilização de óleos essenciais de condimentos. **Ciência Agrotecnológica**, v.30 n.4 p. 731-733, 2006.

PITTER, M. H., HERNEST, E. Peppermint oil for irritable bowel syndrome: a critical review and methaanalysis. **American College of Gastroenterology** v. 93 n. 11 p. 31-35, 1998.

PLOCHARSKI, W. Strawberry - quality of fruits, their storage life and suitability for processing. **Fruit Science Report**, Skierniewice, v. 13, n. 1, p. 7-18, 1986.

PLOTTO, A.; ROBERTS, D.D.; ROBERTS, R.G. Evaluation of plant essential oils as natural postharvest disease control of tomato (*Lycopersicon esculentum*). **Acta Horticulturae**, v. 628, p. 737-45, 2003.

RADMANN, E. B.; BIANCHI, V. J.; OLIVEIRA, R. P.; FACHINELLO, J. C. Caracterização e diversidade genética de cultivares de morangueiro. **Horticultura Brasileira**, v. 24, n. 1, p. 84-87, 2006.

RAMPILLI, M.; ANDREINI, R. Evaluation of colour components in sterilized milk. **Italian Journal of Food Science**, v. 4, p. 285 e 291, 1991.

REIMANN, S.; DEISING, H. B. Fungicides: risk of resistance development and search for new targets. **Archives of Phytopathology and Plant Protection**, New York, v. 33, n. 4, p. 329-349, Nov. 2000.

REICHERT L. J.; MADAIL J. C. M. Aspectos socio-econômicos. In: SANTOS AM; MEDEIROS ARM. (Ed.) **Morango; produção. Brasília:** Embrapa Clima Temperado/Embrapa Informação Tecnológica, p. 12-15, 2003.

RESENDE J. T. V.; MORALES R. G. F.; FARIA M. V.; RISSINI A. L. L.; CAMARGO L. K. P.; CAMARGO C. K. Produtividade e teor de sólidos solúveis de frutos de cultivares de morangueiro em ambiente protegido. **Horticultura Brasileira**, v. 28, n. 2, abr.- jun. 2010.

SANTOS, A. M. dos. **A cultura do Morango**. Embrapa Clima Temperado, Centro Nacional de Pesquisas de Fruteiras de Clima Temperado – Fruteiras. Coleção Plantar, n. 7, p. 35, 1993.

SANTOS, A. M.; MEDEIROS, A. R. M. Morango – Produção. Brasília: **EMBRAPA CLIMA TEMPERADO**, Pelotas, RS, 2003, 81 p., (Frutas do Brasil, 40).

SEAB: Secretaria da Agricultura e do Abastecimento. DEPARTAMENTO DE ECONOMIA RURAL – DERAL Área e Produção por região administrativa da SEAB – 2007 a 2011. Disponível em < <http://www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/deral/fru5.pdf> >. Acesso em: maio de 2012.

SCANDALIOS, J.G. Oxygen stress and superoxide dismutases. **Plant Physiology**, v. 101, p. 7-12, 1993.

SINGH, S. P.; CHAND, L.; NEGRI, S.; SINGH, A. K. Antibacterial and antifungal activities of *Mentha arvensis* essential oil. **Fitoterapia**, v. 63, n. 1, p. 76-78, 1992.

SINGH, P.; SHUKLA, R.; PRAKASH, B.; KUMAR, A.; SINGH, S.; MISHRA, P.K.; DUBEY, N. K. Chemical profile, antifungal, antiaflatoxic and antioxidant activity of *Citrus maxima* Burm. and *Citrus sinensis* (L.) Osbeck essential oils and their cyclic monoterpene, DL-limonene. **Food and Chemical Toxicology** v. 48 p. 1734-1740, 2010

SHAMAILA, M.; BAUMANN, T. E.; EATON, G. W.; POWRIE, W. D.; SKURA, B. J. Quality attributes of strawberry cultivars grown in British Columbia, **Journal of Food Science**, Chicago, v. 57, n. 3, p. 696-699, mai. 1992.

SHARMA, N; TRIPATHI, A. Fungitoxicity of the essential oil of *Citrus sinensis* on post-harvest pathogens. **World Journal of Microbiology & Biotechnology** v. 22 p. 587-593, 2006.

SHAW, D.V. Strawberry production systems, breeding and cultivars in California. In: II Simpósio Nacional do morango; I Encontro de pequenas frutas e frutas nativas, Pelotas: **Embrapa Clima Temperado**, p. 15-20, 2004, (Documentos 124).

SHUKLA, R. Efficacy of *Lippia alba* (Mill) N. E. Brown essential oil and its monoterpenes aldehyde constituents against fungi isolated from some edible legume seeds and aflatoxin B₁ production. **International Journal of Food Microbiology**, v. 135, p.165-170, 2009.

SUN J. D-Limonene: safety and clinical applications. **Alternative Medicine Revisit**, v. 12 n. 3 p. 259-264, 2007.

TAVISH, H. M.; HARRIS, D. An economic study of essential oil production in the UK: a

case study comparing non-UK lavender/lavandin production and peppermint/spearmint production with UK production techniques and costs. In: Government Industry, **Forum for Non-Food Crops**. Edinburg, The Scotch Parliament, 2002.

THIMÓTEO, A.; RESENDE, J. T. V.; GONÇALVES, W. M.; RESENDE, F. V.; NASCIMENTO, I. R.; FARIA, M. V. Expectativa de retorno e risco da produção de morangos no município de Guarapuava – PR. In: 46º Congresso Brasileiro de Olericultura, Goiânia, **Horticultura Brasileira** – Suplemento CD – Rom, v. 24., 2006.

TANAKA, M. A S.; BETTI, J. A KIMATI, H. Doenças do Morangueiro. **Manual de Fitopatologia: Doenças de Plantas Cultivadas**. ed. Agronômica Ceres, São Paulo v. 2, p. 556-571, 1997.

TÖFOLI, J. G.; DOMINGUES, R. J. Morango: Controle adequado, **Revista Cultiva**, 2005.

VAN HOUTEN, B.; WOSHNER, V.; SANTOS, J. H. Role of mitochondrial DNA in toxic responses to oxidative stress. **DNA Repair** v. 5, p. 145–152, 2006.

VENZON M; ROSADO MC; PINTO CMF; DUARTE VS, EUZÉBIO DE, PALLINI A. Potencial de defensivos alternativos para o controle do ácaro branco em pimenta “Malagueta”. **Horticultura Brasileira** v. 24 p. 224-227, 2006.

VIEITES, R. L; EVANGELISTA, R. M; SILVA, C. S; MARTINS, M. L. Conservação do morango armazenado em atmosfera modificada. **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 27, n. 2, p. 243-252, abr./jun. 2006.

3 ÓLEOS ESSENCIAIS NO CONTROLE DE MOFO CINZENTO E DE PODRIDÃO MOLE E SEUS EFEITOS NA QUALIDADE PÓS-COLHEITA DE MORANGO

RESUMO

O morango (*Fragaria x ananassa* Duch) é muito perecível e vulnerável à infecção de fungos, resultando em podridões e perdas econômicas. A tendência atual é a substituição de defensivos sintéticos por métodos alternativos como o uso de óleos essenciais para controle de doenças. Dessa forma objetivou-se no presente estudo avaliar efeito do tratamento de morango com voláteis de óleos essenciais para controle dos fungos causadores de doenças na pós-colheita de morango e as consequências do uso destes voláteis nas características físico-químicas na colheita e ao longo do armazenamento. O experimento foi conduzido com os óleos essenciais (OE's) de *Mentha arvensis*, *Citrus limon*, *Zingiber officinalis* e *Thymus vulgaris*. Os morangos foram inoculados e a seguir armazenados a 25 ± 1 °C por até quatro dias. A avaliação do efeito dos voláteis do OE de *M. arvensis* sobre as características físico-químicas dos morangos foi efetuada ao longo do armazenamento a 10 ± 1 °C por até 8 dias. Os voláteis do óleo essencial de *M. arvensis* são capazes de controlar os fungos *Botrytis cinerea* e *Rhizopus stolonifer* nas doses 10 µL, 15 µL e 20 µL. Os voláteis do óleo essencial de *Citrus limon*, controlaram o *B. cinerea*, na dose de 20 µL. A ação dos voláteis do OE de *M. arvensis* na qualidade do pseudofruto resultou em declínio da coloração nas doses 15 e 20 µL ao longo do armazenamento, para as demais características físico-químicas não houve interferência dos voláteis sobre os morangos.

Palavras-chave: Controle alternativo. *Botrytis cinerea*. *Rhizopus stolonifer*. *Mentha arvensis*. *Fragaria sp*.

ESSENTIAL OILS IN CONTROL OF GREY MOULD AND SOFT ROT AND ITS EFFECTS ON POST-HARVEST QUALITY OF STRAWBERRY

ABSTRACT

The strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch) is very perishable and vulnerable to fungal infection, resulting in decay and economic losses. The current trend is to replace synthetic pesticides by alternative methods such as the use of essential oils for disease control. Thus if the present study aimed to evaluate the treatment effect of strawberry volatile essential oils for control of fungi causing postharvest diseases in strawberry and consequences of using these volatiles on the physicochemical characteristics at harvest and throughout the storage. The experiment was conducted with the essential oils (EO's) *Mentha arvensis*, *Citrus limon*, *Zingiber officinalis* and *Thymus vulgaris*. The strawberries were inoculated and then stored at 25 ± 1 ° C for up to four days. Evaluation of the effect of volatile EO *M. arvensis* on the physicochemical characteristics of strawberries was performed during storage at 10 ± 1 ° C for up to 8 days. The volatile essential oil of *M. arvensis* are able to control *Botrytis cinerea* and *Rhizopus stolonifer* fungi at doses 10 µL, 15 µL and 20 µL. The volatile essential oil of *Citrus limon*, controlled the *B. cinerea*, at a dose of 20 µL. The action of volatile OE *M. arvensis* as the pseudo resulted in decreased staining in doses 15 µL and 20 µL during storage, for other physicochemical characteristics there was no interference from volatile over the strawberries.

Key-words: Alternative control. *Botrytis cinerea*. *Rhizopus stolonifer*. *Mentha arvensis*. *Fragaria sp.*

3.1 INTRODUÇÃO

As doenças consideradas mais importantes na pós-colheita de morango são o mofo-cinzeno e a podridão mole, causadas respectivamente pelos fungos *Botrytis cinerea* e *Rhizopus stolonifer* (COSTA; VENTURA, 2006). O controle de fungos patogênicos de pós-colheita em frutas e vegetais é realizado usualmente com a aplicação de fungicidas químicos, produzidos sinteticamente (SPADARO; GULLINO, 2004).

A aplicação incorreta desses fungicidas pode resultar em espécies de fungos resistentes ao fungicida, contaminação ambiental e aversão dos consumidores por produtos frescos (MARQUENIE *et al.*, 2002 ; VENZON *et al.*, 2006). A preocupação dos consumidores sobre o uso indiscriminado de defensivos sintéticos é crescente, havendo a necessidade de novas alternativas para medida de controle dos patógenos (TIAN, 2006).

Segundo o Relatório do Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos de Alimentos realizado no ano de 2011 pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), 58% das amostras de frutos de morangos apresentavam resíduos de agrotóxico acima do permitido e uso de agrotóxicos não autorizados para a cultura. Dessa forma o uso de produtos alternativos para o controle de doenças pós-colheita mostra-se uma opção viável para a cultura do morango, e os óleos essenciais são produtos alternativos (STANGARLIN, 2007).

De acordo com o United States Food and Drug Act (USFDA 2006), os óleos essenciais (OE's) de: alho, citronela, tangerina, palmarosa, canela cravo, limão, lima, cítrico e seus compostos: citral, eugenol, geraniol (recém-cortada e sumos de frutos), carvacrol (sumo de frutos) foram classificados como substâncias seguras (GRAS), que permitem ser utilizadas como alimento aditivo para controlar microorganismos patogênicos e deteriorantes (RAYBAUDI-MASSILIA *et al.*, 2009).

Os óleos essenciais são considerados uma alternativa promissora, por possuírem propriedades antifúngicas, no entanto necessitam de uma concentração elevada quando aplicados em sistemas alimentares (HAMMER *et al.*, 2003; AHMET *et al.*, 2005).

A limitação de tratamentos por molhamento de frutos de morango na pós-colheita, faz com que os OE's sejam uma boa alternativa (TZORTZAKIS 2007). Alguns estudos relataram efeitos benéficos do uso de OE's na pós-colheita para o controle de doenças, mantendo a qualidade dos frutos de uva, pera, abacate e cerejas (DUAN & JU, 2000; MARTINEZ-ROMERO *et al.*, 2005; PESIS *et al.*, 1998; SERRANO *et al.*, 2005). Objetivou-se neste estudo, avaliar a eficiência de OE's de *Mentha arvensis*, *Citrus limon*, *Zingiber*

officinalis e *Thymus vulgaris* no controle de *Botrytis cinerea* e *Rhizopus stolonifer*, patógenos pós-colheita do morangueiro, e o efeito destes sobre as características físico-químicas dos morangos, *in vivo*.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no mês de outubro de 2012 no laboratório de pós-colheita, localizado na Estação Experimental do Canguiri no Centro de Estações Experimentais do Canguiri - CEEEx, da Universidade Federal do Paraná (UFPR). Para a condução do experimento utilizou-se morangos (*Fragaria x ananassa*) da cultivar Camarosa cultivados em lavoura comercial de cultivo convencional localizada no Município de São José dos Pinhais, Paraná. Os morangos foram colhidos manualmente no período da manhã, e selecionados de acordo com um calibre de três a seis centímetros, ausência de ferimentos e com mais de 70% de coloração da epiderme vermelha, com uma média do ΔE^* : 44,35, o teor de sólido solúvel médio era de 7,2 ° Brix.

A obtenção dos isolados de *Botrytis cinerea* e *Rhizopus stolonifer* foi a partir de isolamento direto de estruturas fúngicas de pseudofrutos de morangueiro infectados da cultivar Camarosa, coletados de área de cultivo comercial no Município de São José dos Pinhais – PR. As estruturas fúngicas presentes em frutos de morangos foram transferidas para placas de Petri com meio de cultura BDA (Batata Dextrose e Ágar). Os isolados foram mantidos em câmara de crescimento sob temperatura de 25 ± 1 ° C e fotoperíodo de 12 horas.

O teste de germinação *in vitro* foi conduzido com esporos dos patógenos *Botrytis cinerea* e *Rhizopus stolonifer* inoculados em meio ágar-água (AA), com uma alíquota de 5 μ L de suspensão de esporos (10^4 esporos.mL⁻¹) com uma gota de Tween 20[®] para cada 50 mL de suspensão. Os meios de cultura (AA) contendo a suspensão de esporos foram submetidos a voláteis dos óleos essenciais (OE's): *Mentha arvensis*, *Citrus limon*, *Zingiber officinalis* e *Thymus vulgaris* na dose 20 μ L. Os AA's foram acondicionados em recipientes de Poli tereftalato de Etileno (PET) com tampa articulada (\emptyset 91 x 42 mm) com capacidade de 350 mL e volume de 32,50 cm³. O OE foi inserido em papel filtro de 5 mm de diâmetro na tampa do recipiente, sem haver contato direto do OE com os esporos dos patógenos, cada patógeno foi inoculado separadamente para não haver competição entre as espécies testadas. Os esporos foram mantidos por 24 horas com a interação dos voláteis dos OE's sob temperatura de 25 ± 1

°C, em seguida os esporos foram avaliados com auxílio de microscópio.

Para o teste *in vivo* de interação dos OE's com os pseudofrutos de morangos, os pseudofrutos foram submetidos a inoculação dos fungos *B.cinerea* e *R. stolonifer*. A inoculação dos patógenos nos morangos, foi realizada a partir dos isolados purificados com a deposição de 5 µL de suspensão de esporos (10^4 esporos.mL⁻¹) por pseudofruto, com uma gota de Tween 20[®] para cada 50 mL de suspensão de esporos de *B. cinerea* e de *R.stolonifer* sobre ferimentos de 3mm nos morangos, realizados com auxílio de um agulha de 0,55 mm de diâmetro. Cada unidade experimental foi constituída de 3 frutos acondicionados em recipientes de Poli tereftalato de Etileno (PET) com tampa articulada (Ø 91 x 42 mm) com capacidade de 350 mL e volume de 32,50 cm³. Os tratamentos foram realizados com a adição de óleo essencial (OE) em discos de papel filtro fixados na tampa do recipiente. Os OE's testados foram: *Mentha arvensis*, *Citrus limon*, *Zingiber officinalis* e *Thymus vulgaris* nas doses: 0 µL, 5 µL, 10 µL, 15 µL e 20 µL, para cada óleo. Os pseudofrutos foram armazenados em BOD sob temperatura de 25 ± 1 ° C e fotoperíodo de 12 horas. O delineamento experimental foi em blocos inteiramente casualizados com quatro repetições, em esquema fatorial 4x5 (4 Óleos x 5 doses). A variável analisada na pós-colheita foi incidência do patógeno onde os morangos foram avaliados visualmente a olho nu, quanto presença de micélio fúngico, determinando-se o percentual de controle do patógeno.

A avaliação da interferência dos voláteis do óleo essencial nas características físico-químicas foi efetuada em grupos de quatro frutos foram colocados dentro de recipientes de Poli Tereftalato de Etileno (PET) com tampa articulada (Ø 91 x 42 mm) com capacidade de 350 mL e volume de 32,50 cm³, num total de 100 recipientes. Em seguida foi fixado um disco de papel filtro de 5mm de diâmetro na tampa de cada recipiente previamente imerso em óleo essencial (OE) de *Mentha arvensis*. As doses do OE de *M. arvensis* adicionadas no papel filtro foram 0 µL, 5 µL, 10 µL, 15 µL e 20 µL. Posteriormente os recipientes fechados foram armazenados em estufa tipo BOD sob temperatura de 10 ± 1 ° C por até oito dias. Cada unidade experimental foi constituída de cada recipiente contendo quatro pseudofrutos. O delineamento experimental utilizado foi de blocos inteiramente casualizados com quatro repetições, em esquema fatorial 5x5 (doses de OE: 0 µL, 5 µL, 10 µL, 15 µL e 20 µL X dias de armazenamento: 0, 2, 4, 6, e 8 dias), totalizando 20 unidades experimentais destrutivas por dia de análise. A qualidade dos pseudofrutos foi analisada nos dias 0, 2, 4, 6, e 8. Para a realização da avaliação da acidez titulável (AT) e do teor de sólidos solúveis (SS) foi extraído o suco dos pseudofrutos provenientes da mesma unidade experimental.

A AT foi determinada pela titulação de 10 mL da amostra obtidos por centrifugação,

com NaOH 0,01mol/L padronizado e 3 gotas de indicador fenolftaleína, sendo os resultados expressos em percentual de ácido cítrico por 100 gramas de amostra.

O teor de SS foi determinado com auxílio de um refratômetro portátil (Atto WYT – 4), devidamente calibrado. A leitura realizada foi direta e feita com a adição de uma gota de suco do fruto, sobre o prisma do aparelho. Os resultados foram expressos em graus Brix (°B). Os valores da Relação SS/AT foram determinados procedendo-se a divisão dos valores encontrados para os teores de sólidos solúveis totais (°Brix) e acidez titulável (% de ácido cítrico) das amostras analisadas

O pH foi determinado por potenciometria e medido após imersão direta do eletrodo no extrato preparado para determinação da AT.

A variável textura foi determinada a partir de um fruto de cada unidade experimental com auxílio do texturômetro da marca BROOKFIELD® modelo CT3, sendo os resultados expressos em Newton.

Os OE's foram fornecidos pela Empresa CHAMEL Indústria e Comércio de Produtos Naturais Ltda. Para a identificação dos componentes, as amostras dos óleos essenciais foram preparadas em 0,5 mL de diclorometano (CH_2Cl_2) e 1 mL imediatamente injetado no cromatógrafo a gás acoplado a detector de massas (GCMS-QP2010 Plus, Shimadzu), na ordem *Thymus vulgaris* (0,147 mg), *Citrus limon* (0,136 mg), *Zingiber officinalis* (0,108 mg) e *Mentha arvensis* (0,175 mg). As análises cromatográficas foram feitas em cromatógrafo a gás acoplado a espectrômetro (detector) de massas (GCMS-QP2010 Plus, Shimadzu). O cromatógrafo gasoso utilizou o hélio ultrapuro como gás de arraste com fluxo de $1,8 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, temperatura do injetor em $220 \text{ }^\circ\text{C}$, modo de injeção Split de 1:15, injeção manual, tempo de corrida estabelecido em 77 minutos, em coluna Equily-5 (30 m x 0,22 mm x 0,25 mm), com forno da coluna, a $60 \text{ }^\circ\text{C}$, por 2 minutos, aquecimento a $3 \text{ }^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ até $240 \text{ }^\circ\text{C}$, permanecendo em $240 \text{ }^\circ\text{C}$ por 15 minutos. O espectrômetro de massas utilizou a interface GC-MS, a $250 \text{ }^\circ\text{C}$, com fonte de íons a $200 \text{ }^\circ\text{C}$ e modo de ionização por impacto de elétrons a 70 eV. Os componentes dos óleos essenciais foram identificados mediante comparação dos índices de similaridade de espectro de massa (áreas relativas em porcentagem) apresentados com os dados disponíveis na biblioteca Wiley 8 do próprio cromatógrafo GCMS-QP2010 Plus (Shimadzu).

3.3 RESULTADOS

O teste de germinação demonstrou que os esporos dos fungos *B. cinerea* e *R. stolonifer* inoculados em meio de cultura água-água (AA) não germinaram na presença dos óleos essenciais (OE's) de: *Mentha arvensis*, *Citrus limon*, *Zingiber officinalis* e *Thymus vulgaris* na dose 20 μL .

No teste *in vivo* os voláteis de *Mentha arvensis* nas doses 10, 15 e 20 μL , controlaram 100% dos fungos *Botrytis cinerea* e *Rhizopus stolonifer* inoculados em pseudofrutos de morangos. O OE de *Citrus limon* controlou 100% do fungo *B. cinerea* inoculados em pseudofrutos de morango na dose 20 μL .

Os resultados foram expressos em percentual de controle (Figuras 1 e 2) dos respectivos fungos estudados, para cada óleo e as diferentes doses dos OE's testados.

Os morangos inoculados e não submetidos á aplicação dos OE's (controle) apresentaram formação de estrutura fúngicas após quatro dias de armazenamento, confirmando a eficácia do método de inoculação utilizado (Figura 1 e Figura 2).

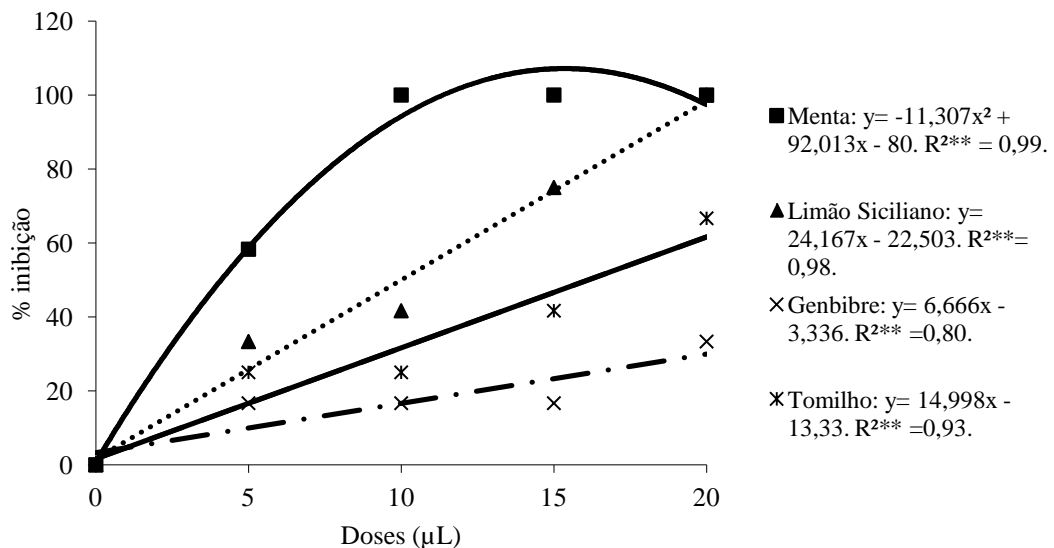


FIGURA 1 - Inibição do desenvolvimento de *Botrytis cinerea* (%) em pseudofrutos de morango da cultivar Camarosa, tratados por volatilização com óleos essenciais de menta (*Mentha arvensis*), limão siciliano (*Citrus limon*), gengibre (*Zingiber officinalis*) e tomilho (*Thymus vulgaris*) nas doses 0, 5, 10, 15 e 20 μL , quatro dias após a inoculação.

A ação dos compostos voláteis presente nos OE's testados para o controle do patógeno *Botrytis cinerea*, foi distinta para cada OE (Figura 1).

Os tratamentos realizados com OE's de *M. arvensis* nas doses 10, 15 e 20 μL e *C. limon*, na dose 20 μL proporcionaram 100% de controle do patógeno em questão. A dose de 5 μL de OE de *M. arvensis* resultou em um controle de 58,3%. Os OE's de *Z. officinalis* e *T. vulgaris* não ultrapassaram os valores de 33,3 e 66,7% respectivamente de controle do *B. cinerea* na sua maior dose aplicada (20 μL).

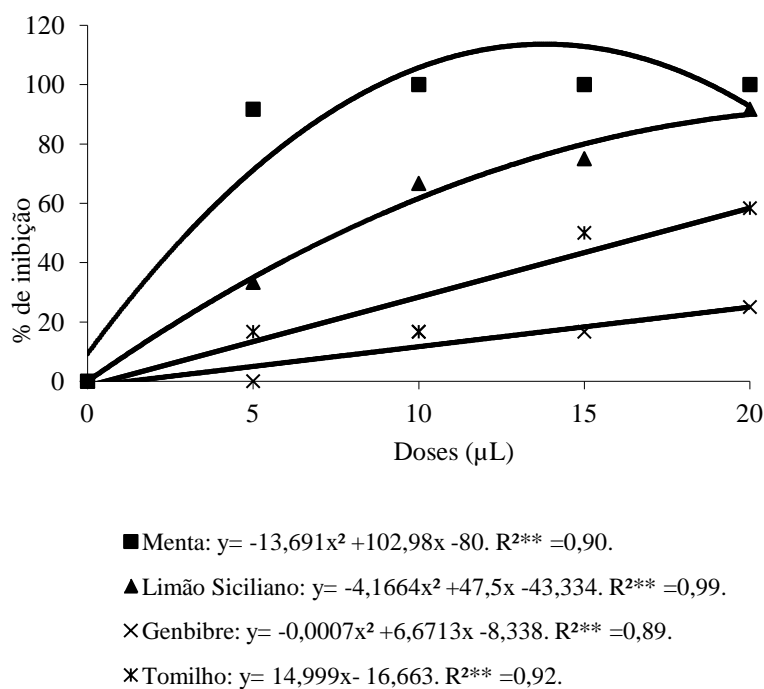


FIGURA 2 - Inibição do desenvolvimento de *Rhizopus stolonifer* inoculado em morango da cultivar Camarosa, tratados por volatilização com óleos essenciais de menta (*Mentha arvensis*), limão Siciliano (*Citrus limon*), gengibre (*Zingiber officinalis*) e tomilho (*Thymus vulgaris*) nas doses, 0, 5, 10, 15 e 20 μL quatro dias após a inoculação.

]

O OE de *M. arvensis* demonstrou uma eficiência de 100% de controle do *R. stolonifer*, nas doses 10, 15 e 20 μL , os demais óleos não proporcionaram 100% de controle em nenhuma das doses testadas (Figura 2). O OE de *C. limon* proporcionou um maior percentual de controle (91,67%) na dose 20 μL . Os OE's de *Z. officinalis* e *T. vulgaris* não ultrapassaram 25 e 58% de controle respectivamente nas suas maiores doses (20 μL).

O OE de *M. arvensis* a partir da dose 10 μL resultou em um controle de 100% de

controle dos patógenos *B. cinerea* e *R. stolonifer*.

O OE de *C. limon* controlou 100% do *B. cinerea* na sua maior dose testada, porem obteve 91,7% de controle do *R. stolonifer* em sua maior dose aplicada.

TABELA 1 - Perfil cromatográfico dos componentes químicos dos óleos essenciais testados, identificados em cromatógrafo a gás acoplado a detector de massas (GCMS-QP2010 Plus, Shimadzu), na ordem *Thymus vulgaris* (0,147 mg), *Citrus limon* (0,136 mg), *Zingiber officinalis* (0,108 mg) e *Mentha arvensis* (0,175 mg).

Nome Vulgar	Nome científico	Componentes (área %)
Menta	<i>Mentha arvensis</i>	Mentol (70,85%), Mentona (17,20%), Isopulegol (3,71%), Menthyl acetato (2,53%), Pulegone (1,72%), Piperitone (1,32%).
Limão siciliano	<i>Citrus limon</i>	Limoneno (83,38%), Terpineno (8,94%), Pineno (7,68%)
Gengibre	<i>Zingiber officinale</i>	Zingibereno (21,86%), Farnesene (20,55%), Germacrene (10,04%), Sesquiphellandrene (7,15%), Eucalyptol (7,00%), Geranial (6,80%), Sabinene (4,61%) Neral (3,31%), Curcumene (3,77%) Camphene (3,42%).
Tomilho	<i>Thymus vulgaris</i>	Carvacrol (45,93%), Cymene (35,88%), Terpineno (4,42%), Isoborneol (3,45%), Linalool (2,95%), Limoneno (2,45%), Camphor (1,89%), Camphene (1,62%), Pinene (1,51%).

O OE de *M. arvensis* apresentou como seus principais componentes o mentol (70,85%) e mentona (17,20%); já o OE de limão siciliano apresentou um componente apenas como principal que foi o limoneno (83,38%). Zingibereno e farnesene foram os dois principais compostos encontrados no OE de *Z. officinale*, apresentou 21,86% e 20,55% respectivamente. O OE de *T. vulgaris* apresentou como seus principais componentes o carvacrol (45,93%) seguido pelo cymeno (35,88%) e terpineno (4,42%).

Os voláteis do OE de *M. arvensis* aplicados nos morangos em diferentes doses ao longo de oito dias de armazenamento não afetaram o teor de sólidos solúveis (SS), a acidez titulável (AT), a relação SS/AT, o pH e a textura de polpa dos frutos, conforme demonstrado na Tabela 2.

TABELA 2 -Valores de F para cada variável seguido pelo seu nível de significância, separadas pelos seus fatores; doses, datas e sua interação doses x datas.

Causas de Variação	SS	AT	SS/AT	pH	Textura	ΔE^*
Dose	0,8 ns	1,00 ns	0,52 ns	0,83 ns	0,19 ns	55,37 **
Data	11,54 **	14,30 **	9,73 **	17,34 **	2,93 **	12,00 **
Dose x Data	1,41ns	1,27 ns	1,65 ns	1,23 ns	1,00 ns	13,03 **

Legenda: (**) significativo a 1%, (*) significativo a 5% e (ns) não significativo.

Os resultados obtidos demonstraram que o OE de *M. arvensis* aplicado na embalagem dos pseudofrutos de morango armazenados por até oito dias afetaram somente a coloração dos morangos.

Os morangos ficaram mais escuros quando submetidos às doses 15 e 20 μL de OE de *M. arvensis* (Figura 3). Os morangos não tratados com o OE de *M. arvensis*, mantiveram sua coloração ao longo do período de armazenamento. A dose de 10 μL não alterou a coloração dos pseudofrutos ao longo do armazenamento.

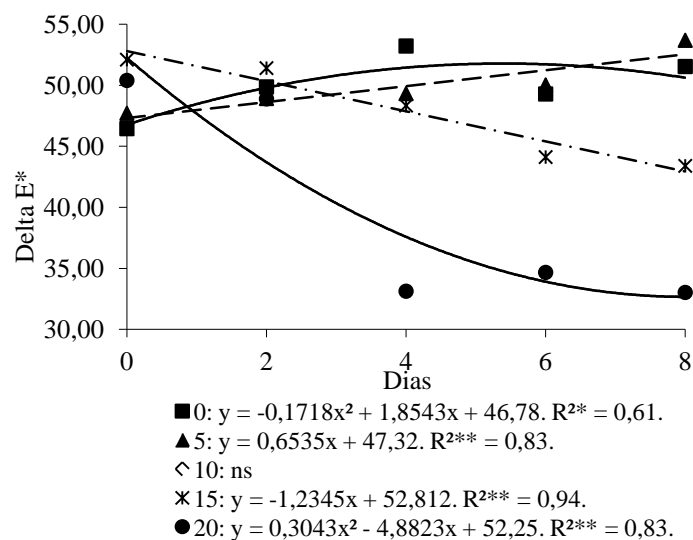


FIGURA 3 - Coloração de morango da cultivar Camarosa tratados com diferentes doses de óleo essencial de *M. arvensis* e armazenados por até oito dias.

3.4 DISCUSSÃO

Os resultados obtidos pelo teste de germinação sugerem que os resultados encontrados são distintos quanto a germinação dos patógenos testados esse fato pode ser explicado pois normalmente observa-se maior eficiência dos óleos essenciais na inibição dos patógenos nos testes *in vitro*. Nos testes *in vivo*, possivelmente seria necessária uma dose maior do produto, pois tem que considerar que o patógeno está em condição ideal de germinação, ou seja, quando se faz fermento no fruto, o patógeno tem a sua disposição a composição química do fruto e encontra-se de certa forma protegido aos voláteis presentes nos OE's pois o patógeno encontra-se envolto pela água da suspensão diluída no suco do pseudofruto de morango.

No experimento *in vivo* observa-se a inibição do crescimento micelial dos fungos inoculados (*B. cinerea* e *R. stolonifer*) nos pseudofrutos, pela ação dos compostos presente no OE de menta, concorda com o estudo realizado por Singh *et al.*, (1992) que verificaram a ação do OE *Mentha arvensis* sobre algumas espécies de fungos, entre eles *Alternaria* sp, *Fusarium moliniforme* e *F. solani*, com uma inibição de 100% do crescimento micelial, a partir de 2.000 mg mL⁻¹.

O componente majoritário do OE de menta, o mentol, pode ser o responsável pela não manifestação dos patógenos inoculados nos pseudofrutos de morango. Segundo Pereira *et al.*, (2006), o mentol é responsável pela inibição do desenvolvimento micelial de *Aspergillus niger* e *A. flavus* nas concentrações 1500 e 2000 mg mL⁻¹, respectivamente. Segundo Duarte (2006) a ação do mentol parece estar associada ao seu caráter lipofílico.

O caráter lipofílico dos óleos essenciais proporciona uma maior afinidade por fases orgânicas, como as membranas biológicas, sendo mais facilmente dispersável de forma completa em meios orgânicos. Dessa forma os OE's desencadeiam efeitos tóxicos na estrutura e na função das membranas das células dos organismos, como alterações na fluidez e permeabilidade e interação com componentes internos da célula (COELHO; SANTOS, 2007; TROMBETA *et al.*, 2005). Diversos estudos relataram a ação de óleos essenciais e de seus constituintes resulta a alteração na membrana plasmática e nas proteínas de membrana, degradação da parede celular, no fluxo de elétrons e na coagulação do citoplasma de fungos e bactérias (JUVEN *et al.*, 1994; ULTEE *et al.*, 2002, LUO *et al.*, 2004).

A ação do OE de limão siciliano pode estar relacionada com a presença do seu componente majoritário limoneno, pois segundo Sharma *et al.*, (2006) definiram a

necessidade de no mínimo 400 $\mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ de limoneno para ocorrer a completa inibição da germinação de esporos de *P. expansum*, porém o resultado da aplicação do OE de limão siciliano pode não afetar a inibição de demais patógenos pois outros estudos demonstraram que muitos microrganismos são resistentes a concentrações acima de 2% de limoneno, inclusive fungos e leveduras (BICAS *et al.*, 2007).

Os OE's de gengibre e tomilho apresentaram um maior controle dos patógenos testados conforme a dose de OE aplicada aumentava.

Os percentuais de controle dos patógenos neste estudo ocorrem devido à natureza de cada óleo, do componente químico, e da quantidade do mesmo, determinando assim o efeito inibitório dos patógenos dos OE's testados.

A ação dos OE's testados sobre os fungos inoculados pode estar de acordo com Kumar *et al.* (2008), pode ser devido a hidrofobicidade dos OE's e de seus constituintes que são capazes de interagir com a camada lipídica das membranas celulares, causando alterações em suas estruturas e as tornando menos seletivas, podendo ocasionar o extravasamento de íons e outros constituintes celulares.

A ação dos OE's em células eucarióticas pode induzir danos mitocondriais, supostamente o OE penetra através da parede celular e membrana citoplasmática, e como consequência ocorre a danificação das membranas mitocondriais, resultando numa mudança no fluxo de elétrons através da cadeia de transporte de elétrons. As mitocôndrias produzem radicais livres devido a mudança no fluxo de elétrons, resultando em oxidação e danos nas proteínas, lipídios e DNA. O DNA mitocondrial danificado inibe a expressão de proteínas de transporte de elétrons que conduzem à acumulação de espécies reativas de oxigênio (ERO) (VAN HOUTEN *et al.*, 2006). As ERO's são radicais hidroxila (OH), ânion superóxido (O^{2-}), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e oxigênio singleto (1O_2), e são tóxicas, às células (MITTLER, 2002; ÉAUX, 2007).

Os resultados obtidos nesta pesquisa podem ser explicados porque em baixas concentrações de OE a mitocôndria não é danificada e o antioxidante não é oxidado, podendo assim sequestrar os radicais livres, já em altas concentrações de OE, a mitocôndria seria danificada e o antioxidante oxidado, podendo agir como pró-oxidantes, danificando o DNA e proteínas (BOLTON, 2002). Segundo Aydin *et al.* (2005), os compostos presentes no OE's como carvacrol, não possuem efeitos citotóxicos em baixas concentrações, porém em concentrações elevadas causam danos ao DNA mitocondrial. Esse fato sugere que a maior inibição dos patógenos testados nesta pesquisa com o acréscimo da dose do OE de *Thymus vulgaris*, esse fato provavelmente pode ser explicado provavelmente pelo incremento da

concentração de carvacrol nos tratamentos.

Os voláteis do OE de *M. arvensis*, não prejudicaram as características de qualidade (SS, AT, relação SS/AT, pH e textura) dos pseudofrutos de morangos ao longo do período de armazenamento. Resultados semelhantes foram observados por Asghari Marjanlo *et al.* (2009), onde frutos de morangos foram tratados com OE de *Cuminum cyminum* L. não interferindo nos teores de SS, na textura, e no pH com 8 dias de armazenamento.

Os valores de ΔE^* dos pseudofrutos não tratados com OE (dose 0 μL) não resultaram em escurecimentos dos morangos no decorrer do período de armazenamento. Esse fato ocorreu devido a ausência dos voláteis do OE de *M. arvensis*, sobre a epiderme dos morangos. As doses mais elevadas de OE 15 e 20 μL , testadas ocasionaram um maior decréscimo nos valores de ΔE^* . Isto foi uma consequência aos pseudofrutos de estarem mais escuros ao fim do período de armazenamento. O escurecimento dos morangos ocorreu provavelmente devido a interação dos voláteis do OE de *M. arvensis* com a epiderme dos pseudofrutos. O declínio dos valores de ΔE^* ocorreu pela ação dos voláteis em maiores doses presente nos OE de *M. arvensis*, possivelmente devido a uma degradação nas quantidades antocianina presente nos frutos. Segundo Cal (2006) a quantidade dos voláteis presentes nos OE's é determinante para que a mitocôndria seja danificada e o antioxidante seja oxidado (Bolton, 2002), esse fato pode explicar a redução nos valores de ΔE^* no presente estudo, pois a antocianina segundo Narayan *et al.* (1999) é um potente antioxidante.

3.5 CONCLUSÕES

O óleo essencial de *Mentha arvensis* é capaz de controlar os fungos *Botrytis cinerea* e *Rhizopus stolonifer* nas doses 10 μL , 15 μL e 20 μL em embalagens de volume de 32,50 cm^3 . O óleo essencial de *Citrus limon*, controlou o *Botrytis cinerea*, na dose de 20 μL .

As características físico-químicas como: teor de SS, AT, relação SS/AT, pH, textura, de frutos de morango armazenados ao longo de oito dias não foram afetadas pela presença dos voláteis do óleo essencial de *Mentha arvensis*, nas doses 5, 10, 15 e 20 μL . Entretanto ao fim dos oito dias de armazenamento os voláteis do óleo essencial de *Mentha arvensis* nas doses de 15 e 20 μL em embalagens de volume de 32,50 cm^3 afetaram a coloração dos pseudofrutos de morango.

REFERÊNCIAS

AHMET, C.; SABAN, K.; HAMDULLAH, K; ERCAN, K. Antifungal properties of essential oil and crude extracts of *Hypericum linarioides* Bosse. **Biochem Syst Ecol.** v. 33 p. 245- 256, 2005.

ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Disponível em < http://portal.anvisa.gov.br/wps/content/Anvisa+Portal/Anvisa/Inicio/Agrotoxicos_e_Toxicologia/Assuntos_de_Interesse/Programa_de_Analise_de_Residuos_de_Agrotoxicos_em_Alimentos >. Acesso em: março de 2012.

ASGHARI, M. O. A; MOSTOFI, Y; SHOEIBI, S. H; FATTAHI, M. Effect of cumin essential oil on postharvest decay and some quality factors of strawberry. **Journal of Medicinal Plants** v. 8, p. 25-43, 2009.

AYDIN, S; BASARAN, A. A; BASARAN, N. The effects of thyme volatiles on the induction of DNA damage by the heterocyclic amine IQ and mitomycin C. **Mutat. Res.** v. 581, p. 43–53, 2005.

BICAS JL, PASTORE GM. Isolation and screening of d-limoneneresistant microorganisms. **Brazilian Journal of Microbiology** v. 38 p. 563-567, 2007.

BOLTON, J. L. Quinoids, quinoid radicals, and phenoxy radicals formed from estrogens and antiestrogens. **Toxicology.** v. 177, p. 55–65, 2002.

CAL, K. Skin penetration of terpenes from essential oils and topical vehicles. **Planta Med.** v. 72, p. 311–316, 2006.

COSTA, H; VENTURA, J. A. Doenças do morangueiro: diagnóstico e manejo. In: BALBINO, J. M. S. (Ed.). **Tecnologias para produção, colheita e pós-colheita de morangueiro.** Vitória: Incaper, p. 41-57, 2006.

COELHO, A. C. V; SANTOS, P. S. Argilas especiais: argilas quimicamente modificadas – uma revisão; **Quimica Nova**, v. 30, n. 5, p. 1282-1294, 2007

DUARTE, M. C. T. Atividade antimicrobiana de plantas medicinais e aromáticas utilizadas no Brasil. **MultiCiência**, São Carlos out. 2006.

ÉAUX, B.; TOLEDANO, M.B. Ros as signalling molecules: mechanisms that generate

specificity in ROS homeostasis. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 8, p. 813 – 824, 2007.

HAMMER, K. A; JOHNSON. M.; DRY. L.; MICHALAK, E.M.; CARSON, C.F.; RILEY, T.V. Susceptibility of oral bacteria to *Malaleuca alternifolia* (tea tree) oil *in vitro*. **Oral Microbiol Immun** v. 18 p. 389-392, 2003

JUVEN, B. J; KANNER, J; SCHVED, F; WEISSLOWICZ, H. Factors that interact with the antibacterial action of thyme essential oil and its active constituents. **Journal Applied Bacteriology**, v.76, p.626-631, 1994.

LUO, M; JIANG, L. K; HUANG, Y.X; ZUO, G. L. Effects of citral on *Aspergillus flavus* Spores by Quasi-elastic light scattering and multiplet microanalysis techniques. **Acta Biochimica et Biophysica Sinica**, v. 46, n. 4, p. 277-283, 2004.

MARQUENIE, D; LAMMERTYN, J; GEERAERD, A. H. Inactivation of conidia of *Botrytis cinerea* and *Monilinia fructigena* using UV-C and heat treatment. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 74, p.27 -35, 2002.

KUMAR, R; MISHRA, A. K; DUBEY, N. K; TRIPATHI, Y. B. Evaluation of *Chenopodium ambrosioides* oil as a potential source of antifungal, antiaflatoxic and antioxidant activity. **Int. J. Food Microbiol.** v. 115, p. 159–164, 2007.

MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in Plant in Science**, v. 9, p. 405-410, 2002.

NARAYAN, M. S; AKHILENDER N. K.; RAVISHANKAR, G. A. Antioxidant effect of anthocyanin on enzymatic and non-enzymatic lipid peroxidation. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v. 60, n.1, p. 1-4, 1999.

PEREIRA, M. C; VILELA, G. R; COSTA, L. M. A. S. Inibição do desenvolvimento fúngico através da utilização de óleos essenciais de condimentos. **Ciência Agrotecnológica**, v. 30 p. 731-733, 2006.

SINGH, S. P; CHAND, L; NEGRI, S; SINGH, A. K. Antibacterial and antifungal activities of *Mentha arvensis* essential oil. **Fitoterapia**, [S.l.], v. 63, n. 1, p. 76-78, 1992.

SHARMA, N; TRIPATHI, A. Fungitoxicity of the essential oil of *Citrus sinensis* on post-harvest pathogens. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**. v. 22 p. 587-593, 2006.

SPADARO, D; GULLINO, M.L. State of the art and future prospects of the biological control of postharvest fruit diseases. **Int. J. Food Microbiol.** v. 91 p. 185-194, 2004.

STANGARLIN, J. R. Uso de extratos vegetais e óleos essenciais no controle de doenças de plantas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, Maringá. Palestras. Maringá: **Sociedade Brasileira de Fitopatologia.** p. 94-95, 2007.

TIAN, S.P. 2006. Microbial control of postharvest diseases of fruits and vegetables: Current concepts and future outlook. **Microbial Biotechnology in Horticulture** 1:163–202.

TROMBETA, D; CASTELLI, F; SARPIETRO, M. G; VENUTI, V; CRISTANI, M; DANIELE, C; SIJA; MAZZANTI, G.; BISIGNANANO, G. Mechanisms of Antibacterial Action of Three Monoterpenes. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 49, n.6, p. 2474-2478, 2005.

ULTEE, A; BENNIK, M. H; MOEZELAAR, R. The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. **Applied Environment Microbiology**, v.68, p.1561-1568, 2002.

VAN HOUTEN, B., WOSHNER, V., SANTOS, J.H., 2006. Role of mitochondrial DNA in toxic responses to oxidative stress. **DNA Repair** 5, 145–152.

VENZON, M; ROSADO, M. C; PINTO, C. M. F; DUARTE, V. S; EUZÉBIO, D. E; PALLINI, A. Potencial de defensivos alternativos para o controle do ácaro branco em pimenta “Malagueta”. **Horticultura Brasileira** v. 24 p. 224-227, 2006.