

UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA – UDESC
CENTRO DE CIÊNCIAS AGROVETERINÁRIAS – CAV
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUÇÃO VEGETAL

JULIANA AMARAL VIGNALI ALVES

**CRESCIMENTO *IN VITRO* E CONTROLE PÓS-COLHEITA DE MOFO CINZENTO
EM MORANGOS COM ÓLEO ESSENCIAL DE MELALEUCA**

LAGES

2021

JULIANA AMARAL VIGNALI ALVES

**CRESCIMENTO *IN VITRO* E CONTROLE PÓS-COLHEITA DE MOFO CINZENTO
EM MORANGOS COM ÓLEO ESSENCIAL DE MELALEUCA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal do Centro de Ciências Agroveterinárias da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. Cristiano André Steffens

Coorientador: Prof. Dr. Bruno Pansera Espíndola

**Lages, SC
2021**

**Ficha catalográfica elaborada pelo programa de geração automática da
Biblioteca Setorial do CAV/UEDESC,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)**

Amaral Vignali Alves, Juliana
CRESCIMENTO IN VITRO E CONTROLE PÓS-COLHEITA
DE MOFO CINZENTO EM MORANGOS COM ÓLEO
ESSENCIAL DE MELALEUCA / Juliana Amaral Vignali Alves. --
2021.

67 p.

Orientador: Cristiano André Steffens
Coorientador: Bruno Pansera Espíndola
Dissertação (mestrado) -- Universidade do Estado de Santa
Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, Programa de
Pós-Graduação em Produção Vegetal, Lages, 2021.

1. Mofo cinzento. 2. Podridão pós-colheita. 3. Fragaria x
ananassa. 4. Melaleuca alternifolia. I. André Steffens, Cristiano . II.
Pansera Espíndola, Bruno. III. Universidade do Estado de Santa
Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, Programa de
Pós-Graduação em Produção Vegetal. IV. Título.

JULIANA AMARAL VIGNALI ALVES

**CRESCIMENTO *IN VITRO* E CONTROLE PÓS-COLHEITA DE MOFO CINZENTO
EM MORANGOS COM ÓLEO ESSENCIAL DE MELALEUCA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal do Centro de Ciências Agroveterinárias da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal.

BANCA EXAMINADORA

Orientador: _____



Professor Dr. Cristiano André Steffens

Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências
Agroveterinárias, Lages/SC

Membro: _____

Professor Dr. Ricardo Trezzi Casa

Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências
Agroveterinárias, Lages/SC

Membro: _____



Dr. Daniel Alexandre Neuwald

Centro de Competência em Fruticultura do Lago de Constância, Alemanha

Lages, 28 de janeiro de 2021

Dedico este trabalho aos meus pais, com amor!

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos que contribuíram para realização deste trabalho.

A minha família: meus pais, meus irmãos pela presença constante em todas as etapas de minha vida e enorme apoio.

Ao meu orientador Cristiano André Steffens, pela paciência, pelos ensinamentos e por todo o incentivo, sempre presente me auxiliando em todas as etapas de execução da pesquisa. Gratidão!

Ao meu coorientador, Bruno Pansera Espíndola, por me incentivar a ingressar no mestrado e por todo auxílio que me deu durante redação deste trabalho.

As amigadas que a realização deste trabalho me proporcionou: Adriana, Angélica, Keli e Janaiana, estando sempre dispostas e presentes durante a realização e implementação do experimento, e principalmente, por todo o companheirismo.

Aos professores, funcionários e colegas graduandos e pós-graduandos, especialmente da equipe do laboratório de fisiologia e tecnologia pós-colheita, pelos ensinamentos de qualidade, auxílio na realização de experimentos, suporte, dedicação e paciência na realização das atividades.

Ao Dalcir Pilatti, pela concessão dos frutos para realização do projeto.

Ao CAV/UDESC, pela estrutura de materiais e apoio, laboratórios e pela oportunidade de realização do curso.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

Agradeço a todos os que de forma direta ou indireta contribuíram para que mais esse objetivo em minha trajetória fosse alcançado com sucesso.

“Uma pessoa que nunca cometeu um erro nunca experimentou nada novo” Albert Einstein

RESUMO

O objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito do óleo essencial de melaleuca (*Melaleuca alternifolia*) sobre podridão pós-colheita causada por *Botrytis cinerea*, bem como sobre a qualidade sensorial de morangos cultivares San Andreas e Albion. Foram conduzidos dois experimentos: *in vitro* e *in vivo*. O experimento *in vitro* foi constituído da aplicação do óleo essencial de melaleuca nas doses de 0, 10, 50, 100, 500, 1.000 e 2.000 $\mu\text{L L}^{-1}$, por fumigação dentro das placas de Petri com meio BDA e inoculados com um disco de *B. cinerea* com 7 mm de diâmetro. O experimento *in vivo* foi conduzido durante a safra 2019/20, com frutos provenientes de área de produção comercial localizada em Lages, SC. Foram avaliados os seguintes tratamentos: controle (sem aplicação de óleo) e óleo essencial de melaleuca nas concentrações de 100, 300 e 600 $\mu\text{L L}^{-1}$, para a cultivar San Andreas, aplicados por fumigação, onde cada tratamento foi constituído de quatro repetições de 15 frutos inoculados com *B. cinerea* e 20 frutos não inoculados. Já para a cultivar Albion foram avaliados os tratamentos controle (sem aplicação de óleo) e doses de 50 e 200 $\mu\text{L L}^{-1}$, onde cada tratamento foi constituído de cinco repetições de 15 frutos inoculados com *B. cinerea* e 20 frutos não inoculados. Após aplicação dos tratamentos, os frutos ficaram em condições ambiente ($23\pm 3^\circ\text{C}$ e UR de $80\pm 2\%$) por 2 dias (para a cultivar San Andreas) e 3 dias (para a cultivar Albion), onde os inoculados foram avaliados quanto a incidência e severidade de podridão (a cada 12 horas para a cultivar San Andreas, e a cada 24 horas para a cultivar Albion) e os não inoculados avaliados quanto aos seguintes atributos: incidência e severidade de podridão, taxas respiratória e de produção de etileno, força para penetração da polpa, sólidos solúveis, acidez titulável, cor da epiderme [ângulo *hue* (h°), lightness (L^*) e croma (C)], teor de compostos fenólicos totais, atividade da enzima peroxidase e perfil de compostos voláteis. A aplicação do óleo essencial de melaleuca reduziu o desenvolvimento *in vitro* e *in vivo* de *B. cinerea*. Frutos tratados com óleo essencial de melaleuca da cultivar San Andreas tiveram menores taxas respiratória e de produção de etileno, enquanto os frutos da cultivar Albion tiveram maior taxa respiratória. O teor de sólidos solúveis foi maior e a acidez titulável maior nos frutos da cultivar San Andreas tratados com 600 $\mu\text{L L}^{-1}$ de óleo essencial de melaleuca. A força para penetração da polpa foi menor e a cor da epiderme dos frutos foi alterada nos frutos tratados com o óleo essencial de melaleuca. O óleo essencial de melaleuca reduziu o teor de compostos fenólicos totais. O perfil de compostos voláteis foi alterado conforme a dose do óleo essencial de melaleuca aumentou. A aplicação do óleo essencial de melaleuca reduziu o desenvolvimento da doença, no entanto,

houve alteração indesejada nos atributos de qualidade dos frutos bem como no perfil de compostos voláteis.

Palavras-chave: Mofo cinzento. Podridão pós-colheita. *Fragaria x ananassa*. *Melaleuca alternifolia*.

ABSTRACT

***IN VITRO* GROWTH AND POSTHARVEST CONTROL OF GREY MOLD IN STRAWBERRIES WITH MELALEUCA ESSENTIAL OIL**

The objective of the present work was to evaluate the effect of tea tree essential oil (*Melaleuca alternifolia*) on postharvest rot of *Botrytis cinerea* and the sensory quality of 'San Andreas' and 'Albion' strawberries. Two experiments were conducted: *in vitro* and *in vivo*. The *in vitro* experiment consisted of the application of tea tree essential oil at doses of 0, 10, 50, 100, 500, 1000 and 2000 $\mu\text{L L}^{-1}$, by fumigation inside the Petri dishes with BDA medium and inoculated with a disc of *B. cinerea* with 7 mm in diameter. The *in vivo* experiment was conducted during the 2019/20 harvest, with fruit from a commercial production area located in Lages, SC. The following treatments were evaluated: control (without oil application) and tea tree essential oil in concentrations of 100, 300 and 600 $\mu\text{L L}^{-1}$, for the cultivar San Andreas, applied by fumigation, where each treatment consisted of four replications of 15 fruit inoculated with *B. cinerea* and 20 uninoculated fruit. For the Albion cultivar, the control treatments (without oil application) and doses of 50 and 200 $\mu\text{L L}^{-1}$ were evaluated, where each treatment consisted of five repetitions of 15 fruit inoculated with *B. cinerea* and 20 non-inoculated fruit. After treatment application, fruit were kept in ambient conditions ($23 \pm 3^\circ\text{C}$, $80 \pm 2\%$ RH) for 2 days (for the cultivar San Andreas) and 3 days (for the cultivar Albion), where the inoculated ones were evaluated for incidence and severity of rot (every 12 hours for the cultivar San Andreas, and every 24 hours for the cultivar Albion) and the non-inoculated evaluated for the following attributes: incidence and severity of rot, respiratory rates and ethylene production, strength for pulp penetration, soluble solids, titratable acidity, color of the epidermis [hue angle (h°), lightness (L^*) and chroma (C)], content of total phenolic compounds, activity of the peroxidase enzyme and profile of volatile compounds. The application of tea tree essential oil reduced the *in vitro* and *in vivo* development of *B. cinerea*. Fruit treated with tea tree essential oil from the cultivar 'San Andreas' had lower respiratory and ethylene production rates, while fruit from the cultivar 'Albion' had a higher respiratory rate. The soluble solids content and the titratable acidity were higher in the fruit of the cultivar 'San Andreas' treated with 600 $\mu\text{L L}^{-1}$ of tea tree essential oil. The force for penetration of the pulp was lower and the color of the epidermis of the fruit was changed in the fruit treated within the tea tree essential oil. Tea tree essential oil reduced the content of total phenolic compounds. The profile of volatile compounds was changed as the dose of tea tree essential oil increased. The application of tea tree essential oil

reduced the development of the disease, however, there was an unwanted change in the quality attributes of the fruit as well as in the profile of volatile compounds.

Keywords: Gray mold. Post-harvest rot. *Fragaria x ananassa*. *Melaleuca alternifolia*.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Ciclo da doença de *Botrytis cinerea* em morango. Fontes de inóculo de *B. cinerea* incluem folhas e escleródios infectados. São descritas infecções primárias de flores e infecções secundárias de frutas.....25
- Figura 2 – Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), para incidência e severidade de *Botrytis cinerea*, em morangos ‘San Andreas’ submetidos as doses de 0, 100, 300 e 600 $\mu\text{L L}^{-1}$ de óleo essencial de melaleuca (*Melaleuca alternifolia*), e mantidos por 36 h em condições ambiente ($23\pm 2^\circ\text{C}$ /UR de $60\pm 5\%$).....40
- Figura 3 – Porcentagem de controle (%), *in vitro*, com base no crescimento micelial de *Botrytis cinerea*, isolado em meio BDA, após 5 dias de incubação a $23\pm 2^\circ\text{C}$ e 12 h de fotoperíodo, com o óleo essencial de melaleuca (*Melaleuca alternifolia*) fumigado nas doses de 0, 10, 50, 100, 500, 1.000 e 2.000 $\mu\text{L L}^{-1}$42
- Figura 4 – Minicâmaras para aplicação dos tratamentos em morangos ‘San Andreas’ e ‘Albion’.
..... 62
- Figura 5 – Morangos ‘San Andreas’ submetidos aos tratamentos controle (A); óleo essencial de melaleuca 100 $\mu\text{L L}^{-1}$ (B); 300 $\mu\text{L L}^{-1}$ (C); e 600 $\mu\text{L L}^{-1}$ (D)..... 63
- Figura 6 – Morangos ‘San Andreas’, 36 horas em condições ambiente, submetidos aos tratamentos controle (A); óleo essencial de melaleuca 100 $\mu\text{L L}^{-1}$ (B); 300 $\mu\text{L L}^{-1}$ (C); e 600 $\mu\text{L L}^{-1}$ (D)..... 64
- Figura 7 – Morangos ‘Albion’ submetidos aos tratamentos controle (A); óleo essencial de melaleuca 50 $\mu\text{L L}^{-1}$ (B) e 200 $\mu\text{L L}^{-1}$ (C)..... 65
- Figura 8 – Morangos ‘Albion’, 72 horas em condições ambiente, submetidos aos tratamentos controle (A); óleo essencial de melaleuca 50 $\mu\text{L L}^{-1}$ (B) e 200 $\mu\text{L L}^{-1}$ (C)..... 66
- Figura 9 – Crescimento micelial de *Botrytis cinerea* (A), isolado em meio BDA, após 5 dias de incubação a 23°C e 12 h de fotoperíodo, com o óleo essencial de melaleuca (*Melaleuca alternifolia*) fumigado nas doses de 10 $\mu\text{L L}^{-1}$ (B), 50 $\mu\text{L L}^{-1}$ (C), 100 $\mu\text{L L}^{-1}$ (D), 500 $\mu\text{L L}^{-1}$ (E), 1.000 $\mu\text{L L}^{-1}$ (F) e 2.000 $\mu\text{L L}^{-1}$ (G). 67

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 – Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), para incidência e severidade, de *Botrytis cinerea*, em morangos ‘Albion’ submetidos as doses de 0, 50, 250 $\mu\text{L L}^{-1}$ de óleo essencial de melaleuca (*Melaleuca alternifolia*), e mantidos por 36 h em condições ambiente ($23\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C/UR}$ de $60\pm 5\%$). 40
- Tabela 2 – Produção (número de esporos mL^{-1}) e viabilidade (%) de esporos de *Botrytis cinerea*, após 24 e 48 horas incubados a $23\pm 2^{\circ}\text{C}$ e com ausência de luz em meio de cultura BDA com diferentes doses de óleo essencial de melaleuca. 42
- Tabela 3 - Taxas respiratória ($\eta\text{mol de CO}_2\text{ kg}^{-1}\text{ s}^{-1}$) e de produção de etileno ($\text{pmol C}_2\text{H}_4\text{ kg}^{-1}\text{ s}^{-1}$), sólidos solúveis (SS; $^{\circ}\text{Brix}$), acidez titulável (AT; % de ácido cítrico) e força para penetração da polpa (N) em morangos ‘San Andreas’ submetidos as doses de 0, 100, 300 e 600 $\mu\text{L L}^{-1}$ de óleo essencial de melaleuca (*Melaleuca alternifolia*), e mantidos por 36 h em condições ambiente ($23\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C/UR}$ de $60\pm 5\%$). 45
- Tabela 4 – Taxas respiratória ($\eta\text{mol de CO}_2\text{ kg}^{-1}\text{ s}^{-1}$) e de produção de etileno ($\text{pmol C}_2\text{H}_4\text{ kg}^{-1}\text{ s}^{-1}$), sólidos solúveis ($^{\circ}\text{Brix}$), acidez titulável (% de ácido cítrico), força para penetração da polpa (N) em morangos ‘Albion’ submetidos as doses de 0, 50 e 200 $\mu\text{L L}^{-1}$ de óleo essencial de melaleuca (*Melaleuca alternifolia*), e mantidos por 36 h em condições ambiente ($23\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C/UR}$ de $60\pm 5\%$). 45
- Tabela 5 – Cor da epiderme [lightness (L^*), croma (C) e ângulo hue (h°)], teor de compostos fenólicos totais (CFT; $\text{mg EAG } 100\text{ g}^{-1}$) e atividade da enzima peroxidase (POD; DO mg^{-1} de proteína min^{-1}) em morangos ‘San Andreas’ submetidos as doses de 0, 100, 300 e 600 $\mu\text{L L}^{-1}$ de óleo essencial de melaleuca (*Melaleuca alternifolia*), e mantidos por 36 h em condições ambiente ($23\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C/UR}$ de $60\pm 5\%$). 47
- Tabela 6 – Cor da epiderme [lightness (L^*), croma (C) e ângulo hue (h°)], teor de compostos fenólicos totais (CFT; $\text{mg EAG } 100\text{ g}^{-1}$) e atividade da enzima peroxidase (POD;) em morangos ‘Albion’ submetidos as doses de 0, 50 e 200 $\mu\text{L L}^{-1}$ de óleo essencial de melaleuca (*Melaleuca alternifolia*), e mantidos por 36 h em condições ambiente ($23\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C/UR}$ de $60\pm 5\%$). 47
- Tabela 7 - Perfil de compostos voláteis identificados em morangos ‘San Andreas’ submetidos as doses de 0, 100, 300 e 600 $\mu\text{L L}^{-1}$ de óleo essencial de melaleuca (*Melaleuca alternifolia*), e mantidos por 36h em condições ambiente ($23\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C/UR}$ de $60\pm 5\%$). 48

Tabela 8 – Perfil de compostos voláteis identificados em morangos ‘Albion’ submetidos as doses de 0, 50 e 200 $\mu\text{L L}^{-1}$ de óleo essencial de melaleuca (*Melaleuca alternifolia*), e mantidos por 36 h em condições ambiente ($23\pm 2\text{ }^\circ\text{C}$ /UR de $60\pm 5\%$).
.....51

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

h°	Ângulo <i>hue</i>
$^\circ\text{C}$	Graus celsius
μL	Microlitro
AT	Acidez titulável
AACPD _i	Área abaixo da curva de progresso da doença, incidência
AACPD _s	Área abaixo da curva de progresso da doença, severidade
C_2H_4	Etileno
CO_2	Gás carbônico
CTF	Compostos fenólicos totais
DO	Densidade ótica
EDTA	Etilenodiaminotetracético
EROs	Espécies reativas de oxigênio
$\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2$	Sulfato de amônio ferroso
g	Gramma
H_2O_2	Peróxido de hidrogênio
I	Incidência da doença
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
kg	Quilograma
kPa	Quilopascal
L	Litro
mg	Miligramma
min	Minuto
mL	Mililitro
mM	Milimolar
mm	Milímetro
N	Newton
NaOH	Hidróxido de sódio
O_2	Oxigênio
OEM	Óleo essencial de melaleuca
$^\circ\text{Brix}$	Grau Brix
POD	Peroxidase
ppm	Parte por milhão

rpm	Rotação por minuto
SS	Sólidos solúveis
Ti	Tempo em horas da iésima observação
UR	Umidade relativa
v/v	Volume por volume
nMol	Nanomol
μ Mol	Micromol

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	19
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	21
2.1 A CULTURA DO MORANGO	21
2.2 CULTIVAR SAN ANDREAS	21
2.3 CULTIVAR ALBION	22
2.4 FISIOLOGIA E MANEJO PÓS-COLHEITA	22
2.5 MOFO-CINZENTO	24
2.6 ÓLEOS ESSENCIAIS COMO AGENTE DE CONTROLE DE PATÓGENOS	26
2.7 ÓLEO ESSENCIAL DE MELALEUCA	28
3 OBJETIVOS	30
4 MATERIAL E MÉTODOS	31
4.1 AMOSTRAGEM E APLICAÇÃO DOS TRATAMENTOS	31
4.2 ANÁLISES DE QUALIDADE	32
4.3 INCIDÊNCIA E SEVERIDADE DE PODRIDÃO	33
4.4 COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS (CFT)	34
4.4.1 Preparação das amostras	34
4.4.2 Obtenção dos extratos para quantificação de CFT	34
4.4.3 Determinação do conteúdo de CFT	35
4.5 ATIVIDADE DA ENZIMA PEROXIDASE (POD)	35
4.6 ANÁLISE DE COMPOSTOS VOLÁTEIS	36
4.7 AVALIAÇÃO FUNGITÓXICA <i>in vitro</i> DO ÓLEO ESSENCIAL	37
4.8 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	38
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
6 CONCLUSÕES.....	53
REFERÊNCIAS	54
ANEXO A – MINICÂMARAS PARA APLICAÇÃO DOS TRATAMENTOS.....	62
ANEXO B – COMPARAÇÃO ENTRE OS TRATAMENTOS APÓS APLICAÇÃO, MORANGOS ‘SAN ANDREAS’	63
ANEXO C – COMPARAÇÃO ENTRE OS TRATAMENTOS APÓS 36 HORAS EM CONDIÇÕES AMBIENTE, MORANGOS ‘SAN ANDREAS’	64
ANEXO D – COMPARAÇÃO ENTRE OS TRATAMENTOS APÓS APLICAÇÃO, MORANGOS ‘ALBION’	65

ANEXO E – COMPARAÇÃO ENTRE OS TRATAMENTOS APÓS 72 HORAS EM CONDIÇÕES AMBIENTE, MORANGOS ‘ALBION’	66
ANEXO F – COMPARAÇÃO ENTRE OS TRATAMENTOS <i>in vitro</i>	67

1 INTRODUÇÃO

Os morangos são frutos altamente perecíveis, tendo sua vida pós-colheita reduzida, principalmente, pela incidência de podridões causadas por fungos. Entre os patógenos, destacam-se os fungos *Botrytis cinerea* (De Bary) Whetzel, 1945 (mofo cinzento), *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.: Fr.) Vuill. (podridão mole) e espécies de *Colletotrichum* (antracnose) (PARVEZ; WANI, 2018).

O fungo *B. cinerea* é o principal patógeno que ocorre em pós-colheita em morangos. Ao infectar o fruto ele se desenvolve, geralmente, após a colheita, quando o fruto está maduro (DROBY; LICHTER, 2007), sendo mais severo em ambientes úmidos e frescos (AGRIOS, 2005).

O manejo de controle mais adequado do mofo cinzento é realizado por meio do uso de fungicidas em pré-colheita, na floração (MAAS, 2004). No entanto, não há produtos registrados para o controle de *B. cinerea* em pós-colheita de morangos, o que seria uma eficiente alternativa para evitar infecção de frutos saudáveis durante o armazenamento e transporte, quando em contato com frutos doentes (PARVEZ; WANI, 2018). Contudo, há uma crescente preocupação e pressão dos consumidores para a redução do uso de agroquímicos por conta dos possíveis efeitos nocivos ao meio ambiente e a saúde humana. Desta forma, os óleos essenciais constituem-se como forma de controle alternativo de doenças, no campo ou na pós-colheita.

O uso de óleos essenciais tem se mostrado atraente, principalmente, devido à sua volatilidade, possibilidade de aplicação por fumigação, produção de alimentos mais seguros, ampla aceitação por parte dos consumidores, menor impacto ambiental e com propriedades biodegradáveis. A aplicação de óleo essencial é um método interessante para o controle de doenças pós-colheita, devido a sua bioatividade na fase de vapor, os tornando úteis como possíveis fumigantes (ARREBOLA *et al.*, 2010).

Diversos estudos foram realizados com a utilização de óleos essenciais de plantas como método de controle de doenças apresentando efeitos positivos. Vilaplana, Pazmiño e Valencia-Chamorro (2018) observaram que o óleo essencial de tomilho (*Thymus vulgaris* L.), aplicado em pós-colheita, pode controlar *Colletotrichum musae* (Berk. & M.A.Curtis) Arx, (1957) em bananas orgânicas, sem efeito negativo na qualidade físico-química e sensorial. Chaemsanit, Matan e Matan (2018) constataram que a aplicação de óleo de hortelã-pimenta (*Mentha piperita* L.) proporcionou 14 dias sem o surgimento de *Penicillium* e *Rhizopus* em pitaias, e ainda manteve o fruto mais firme, a bráctea mais esverdeada, maior conteúdo de acidez titulável e de compostos fenólicos totais após 21 dias, comparado ao controle. Em morangos, o vapor dos

óleos essenciais de cravo (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M.Perry) e mostarda (*Brassica nigra* L.) mostrou-se eficiente contra *B. cinerea* (AGUILAR-GONZÁLEZ; PALOU; LÓPEZ-MALO, 2015). A atividade inibitória destes óleos essenciais foi atribuída aos principais compostos identificados nestes óleos, o eugenol (cravo) e o alil isotiocianato (mostarda).

A redução de perdas pós-colheita em morangos pode ser obtida com métodos alternativos de controle de fitopatógenos, como a utilização de óleos essenciais.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 A CULTURA DO MORANGO

O morangueiro é uma planta nativa das regiões de clima temperado da Europa e das Américas. O morango (*Fragaria x ananassa* Duch.) cultivado atualmente é resultado da hibridização entre as espécies americanas *F. chiloensis* Mill. e *F. virginiana* Duch., originado na Europa. Pertencente à família Rosaceae, é uma planta herbácea, rasteira e perene, no entanto, é cultivada como anual formando pequenas touceiras. O morango é um pseudofruto, pois se origina de uma única flor com vários ovários, onde cada um destes irá gerar o fruto verdadeiro. O pseudofruto é então constituído de um receptáculo carnoso e suculento, de coloração vermelho-viva (VIGNOLO *et al.*, 2016).

Dentre os pequenos frutos, o morango é o principal deste grupo, sendo cultivado principalmente por pequenos produtores rurais. É um fruto com grande aceitação pelo mercado consumidor por conta de seu aroma e sabor agradáveis, e ainda propriedades funcionais que contribuem para a manutenção da saúde, tendo como principal constituinte os flavonoides (ANTUNES; CARVALHO; SANTOS, 2011). O morango é muito consumido na forma de sucos, iogurtes e geleias, bem como *in natura*.

De acordo com dados de Antunes, Bonow e Reisser Junior (2020), o cultivo de morango no Brasil ocupa uma área de cerca de 4,5 mil hectares, com uma produção anual de aproximadamente 165 mil toneladas. O estado de Santa Catarina ocupa 5% da área total e contribui com 9,9 mil toneladas da produção anual (ANTUNES; FAGHERAZZI; VIGNOLO, 2017). O estado de Minas Gerais é o maior produtor do país, com 2.100 hectares plantados e uma produção de 84 mil toneladas (ANTUNES; BONOW; REISSER JUNIOR, 2020).

A produção brasileira de morango tem aumentado a cada ano, demandando pouco volume de frutos importados para atender o mercado interno. As informações da FAO (2020) indicam que o Brasil importou, em 2017, apenas 3 toneladas de morangos. Ainda, segundo dados da FAO (2020), o maior produtor de morango em 2019 foi a China, com uma produção anual de mais de 3,7 milhões de toneladas, em segundo lugar os Estados Unidos, com cerca de 1,4 milhão toneladas produzidas, e em terceiro lugar o México, com quase 700.000 toneladas por ano. O Brasil nesse ranking fica em décimo primeiro lugar.

2.2 CULTIVAR SAN ANDREAS

A cultivar San Andreas foi lançada pela Universidade da Califórnia (EUA) em 2008, resultado do cruzamento entre ‘Albion’ e a seleção Cal 97.86-1. Foi introduzida nos últimos anos no mercado brasileiro, apresentando bom desempenho nos estados de Minas Gerais e Espírito Santo (FAGHERAZZI, 2013). É uma cultivar de dia neutro, produzindo frutos independentemente da duração do dia, em climas áridos e subtropicais (UNIVERSITY OF CALIFORNIA, 2009), sendo uma das cultivares mais produzidas no Brasil por conta de tais características.

Os frutos desta cultivar são grandes e com bom formato, possuem elevada firmeza de polpa, bom sabor e elevados valores de coloração, o que torna o fruto muito atraente perante os consumidores. É moderadamente resistente ao oídio [*Sphaerotheca macularis* (Wallr.) U. Braun & S. Takam., (2000)], à antracnose [*Colletotrichum acutatum* J.H. Simmonds (1968)], à murcha de verticillium [*Verticillium dahliae* Kleb., (1913)], à podridão de fitóftora [*Phytophthora cactorum* (Lebert & Cohn) J. Schröt., (1886)] e à mancha foliar comum (*Ramularia tulasnei* Sacc.) (UNIVERSITY OF CALIFORNIA, 2009).

2.3 CULTIVAR ALBION

Em 1997, a cultivar Albion se originou de um cruzamento entre a cultivar Diamante e a seleção avançada Cal 94.16-1, pela Universidade da Califórnia. É uma cultivar de dia neutro, assim como a ‘San Andreas’, mas com frutos com melhor qualidade sensorial, maior resistência a danos mecânicos e físico, de coloração mais escura e maior resistência a *P. cactorum* (UNIVERSITY OF CALIFORNIA, 2006).

Os frutos desta cultivar são de formato cônico e alongado, geralmente simétricos, possuem elevada qualidade na firmeza de polpa e são mais saborosos, quando comparado a outras cultivares como San Andreas e Aromas (UNIVERSITY OF CALIFORNIA, 2006). É moderadamente resistente à mancha foliar comum (*R. tulasnei*) e ao oídio (*S. macularis*); é bastante resistente à murcha de Verticillium (*V. dahliae*) e moderadamente resistente à podridão de coroa de antracnose (*C. acutatum*) (UNIVERSITY OF CALIFORNIA, 2006).

2.4 FISIOLOGIA E MANEJO PÓS-COLHEITA

O morango é um fruto altamente perecível, sendo assim, para manter sua qualidade após a colheita deve ser submetido a um manejo rápido e cuidadoso. Dentre os processos fisiológicos envolvidos nesta alta perecibilidade estão a respiração e a transpiração. Ainda, alguns cuidados, como o ponto de colheita correto e o armazenamento refrigerado, são imprescindíveis para a manutenção da qualidade do fruto. Outro fator importante é a ausência de danos mecânicos, que deixam o fruto predisposto a colonização de microrganismos e conseqüentemente, ocasiona perdas nutritivas, qualitativas e econômicas (CANTILLANO; SILVA, 2010).

A alta taxa respiratória causa senescência, perda de firmeza e de massa de produtos frescos (FONSECA; OLIVEIRA; BRECHT, 2002; JALALI *et al.*, 2020; TANO; KAMENAN; ARUL, 2005), pois neste processo ocorre o consumo de energia a partir da oxidação de ácidos orgânicos e carboidratos (CANTILLANO; SILVA, 2010). Os morangos possuem uma taxa respiratória de aproximadamente $15 \text{ mg O}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$, quando em uma temperatura de $0 \text{ }^\circ\text{C}$ (CANTILLANO; SILVA, 2010). Desta forma, a alta taxa respiratória, que apresentam os morangos, resulta em uma vida pós-colheita mais curta.

Outro processo fisiológico que interfere na pós-colheita dos morangos é a transpiração, sendo caracterizada pela perda de água na forma de vapor (CANTILLANO; SILVA, 2010), o que acarreta à deterioração comercial e fisiológica como a perda de massa, murcha, redução da rigidez, turgidez e suculência dos frutos (RODOV *et al.*, 2010). Segundo Cantillano e Silva (2010), o morango possui grande superfície exposta para transpiração em relação ao seu peso. Além disso, sua epiderme é muito fina e sem proteção, o que facilita a perda de água, e, conseqüentemente, limita o tempo de prateleira do fruto.

A colheita do morango é um dos processos mais delicados e importantes, pois são frutos extremamente delicados e pouco resistentes, desempenhando um papel direto na durabilidade pós-colheita e na sua aceitação pelo consumidor. É indicado que a colheita seja feita nas horas mais frescas do dia e que no momento da colheita seja feita uma pré-seleção dos frutos, eliminando frutos com deformidades e com podridões ou injúrias. De modo geral, os frutos devem ter no mínimo 70 a 75% de cor vermelha brilhante, porém o ponto de colheita pode variar em função do tempo e distância de transporte, temperatura ambiente, cultivar e finalidade do produto (CANTILLANO; SILVA, 2010), sendo que deve ser levado em consideração alguns atributos como a cor, textura e sabor.

Ainda, é recomendado que os frutos sejam submetidos ao resfriamento rápido após a colheita, pois mantem a qualidade e frescor dos mesmos com a conseqüente diminuição da

desidratação e deterioração, durante o período de armazenamento e transporte (CANTILLANO; SILVA, 2010; NEVES, 2018).

O armazenamento correto dos morangos é um fator determinante para o prolongamento da vida pós-colheita, quando se trata do consumo do fruto *in natura*. O uso de embalagens PET (polietileno tereftalato) cobertas com filme de PVC (policloreto de vinila) é o mais utilizado (CANTILLANO; SILVA, 2010), pois preserva melhor a coloração característica do fruto, reduz as taxas de respiração e de perda de massa (YAMASHITA *et al.*, 2006; SENA *et al.*, 2019;) e conseqüentemente aumenta o tempo de comercialização dos frutos. As condições ideais de armazenamento refrigerado dos morangos são temperatura em torno de 0 a 2°C e umidade relativa de 90 a 95%, podendo os frutos serem armazenados por até doze dias nestas condições (CANTILLANO; SILVA, 2010; ANDRADE JÚNIOR *et al.*, 2016). Adicionalmente ao armazenamento refrigerado, pode ser feito o uso da atmosfera modificada com pressões parciais elevadas de CO₂ e reduzidas de O₂, que variam de acordo com o estágio de maturação do fruto, a temperatura de armazenamento e o tipo de embalagem utilizada (CANTILLANO; SILVA, 2010; BARRIOS; LEMA; LAREO, 2014; ANAMI *et al.*, 2020).

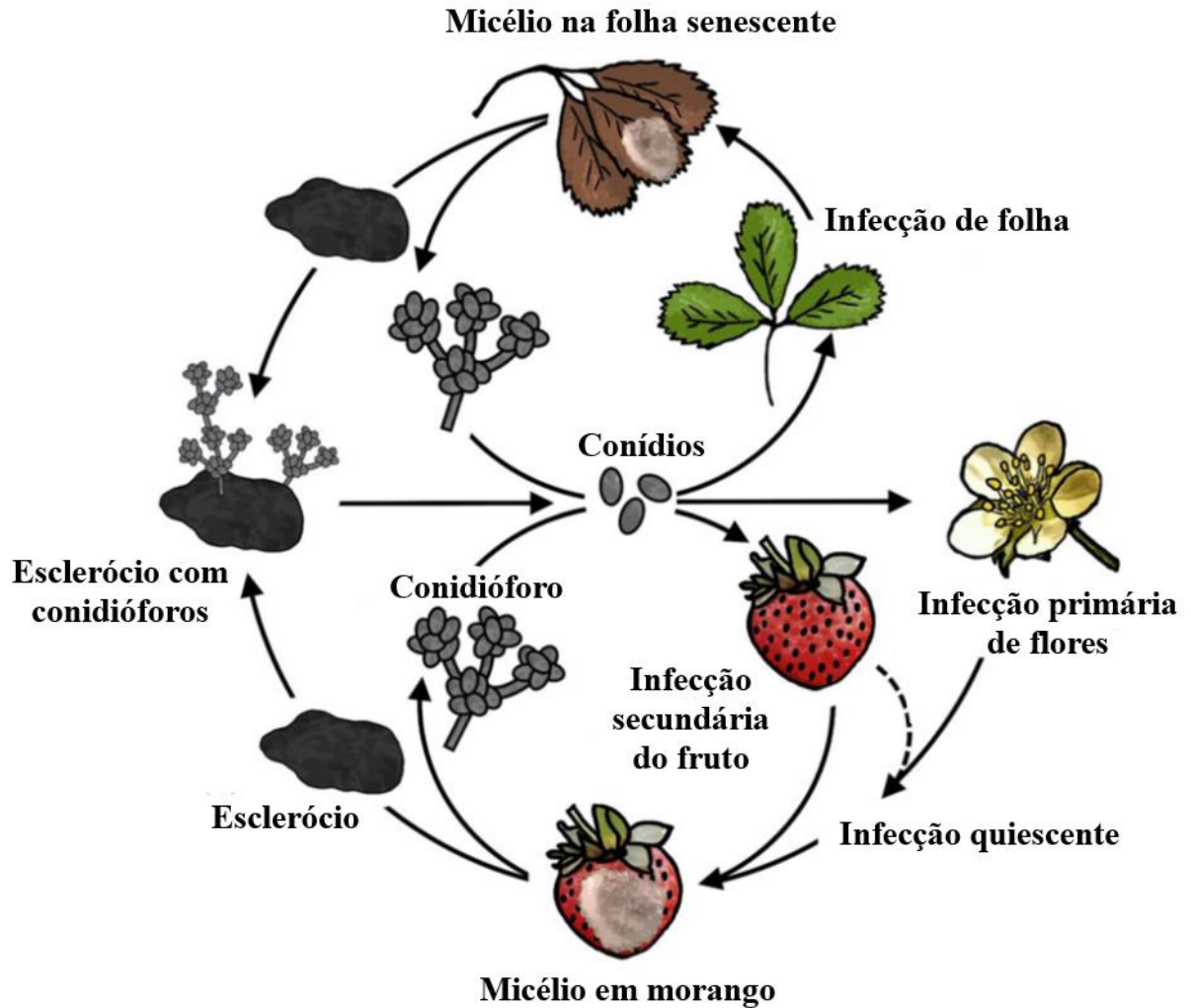
2.5 MOFO-CINZENTO

O mofo-cinzento, ocasionado pelo fungo *B. cinerea*, é a doença mais significativa que ocorre em morangos (PETRASCH *et al.*, 2019). Sua ocorrência pode ser no campo, porém é mais comum desenvolver os sintomas da infecção na pós-colheita.

O *B. cinerea* é pertencente ao reino Fungi, filo Ascomycota, subfilo Pezizomycotina, classe Leotiomycetes, ordem Helotiales, família Sclerotiniaceae e gênero *Botryotinia*. Diversas espécies são afetadas em regiões temperadas e subtropicais e este patógeno pode causar o apodrecimento de todas as partes aéreas das plantas e o apodrecimento de vegetais, frutas e flores após a colheita (WILLIAMSON *et al.*, 2007).

O *B. cinerea* é um fungo necrófito e em infecções primárias infecta órgãos florais durante ou logo após a floração, permitindo que as hifas cresçam no receptáculo (WILLIAMSON *et al.*, 2007) (Figura 1). Em condições de alta umidade e temperatura entre 18 e 23°C, infecta a inflorescência, se espalhando para o pedicelo e apodrecendo os botões florais (AGRIOS, 2005). Ainda, o patógeno provoca podridão de coloração cinza no tecido do fruto, com aspecto de mofo. Após o fruto ser infectado, os sintomas avançam rapidamente, inviabilizando-os para o comércio e consumo (UENO; COSTA, 2016).

Figura 1 – Ciclo biológico de *Botrytis cinerea* em cultivo de morango vivo. Fontes de inóculo de *B. cinerea* incluem folhas e esclerócios infectados. São descritas infecções primárias de flores e infecções secundárias de frutas.



Fonte: PETRASCH *et al.* (2019).

É uma doença de difícil controle, onde o mais frequente método de controle é o uso de fungicidas na pré-colheita. No entanto, algumas medidas podem ser tomadas para minimizar as perdas, como a prevenção de crescimento vegetativo excessivo das plantas, por meio da densidade de plantas, aplicações de nitrogênio controladas, remoção de frutas infectadas e de restos culturais do campo, bem como a colheita dos frutos antes que estejam completamente maduros para evitar danos ou lesões (MAAS, 2004; UENO; COSTA, 2016). Além disso, o armazenamento refrigerado imediato da fruta colhida reduz a incidência desta podridão (CANTILLANO; SILVA, 2010; PETRASCH *et al.*, 2019).

2.6 ÓLEOS ESSENCIAIS COMO AGENTE DE CONTROLE DE PATÓGENOS

Os produtos naturais são utilizados desde o século XIX para o controle de pragas e doenças agrícolas (MORAES, 2009). Os primeiros produtos utilizados foram a base de *Chrysanthemum cinerariaefolium* L., *C. roseum* L., *C. coccineum* L., fontes de piretrina, *Derris spp.*, fontes de rotenona, e *Nicotiana spp.*, fonte de nicotina, que eram empregados principalmente, como inseticidas e fungicidas. Porém, a partir do século XX, começou-se a utilização de produtos cada vez mais tóxicos, e naquela época não havia o fomento do uso de produtos menos tóxicos, não tendo a preocupação com a saúde humana e a contaminação do meio ambiente. Tendo em vista que, após a revolução verde era necessário aumentar a produção, a procura por produtos sintéticos para o controle fitossanitário aumentou cada vez mais, pois aparentemente esta seria a solução (MORAES, 2009).

Os óleos essenciais são misturas complexas de compostos aromáticos sintetizados pelas plantas via metabolismo secundário, e podem ser extraídos de diferentes partes vegetais, podendo a composição do óleo variar com a parte da planta de onde é extraído (HEREDIA, 2018). Flores, folhas, cascas, rizomas e frutos são matérias-primas para a extração de óleos essenciais (BIZZO; HOVELL; REZENDE, 2009). Os compostos voláteis presentes nos óleos essenciais, que são principalmente substâncias terpenoides (monoterpenos, sesquiterpenos e diterpenos), alcaloides e substâncias fenólicas, constituem uma mistura de compostos químicos que proporcionam aos óleos suas características específicas (FIGUEIREDO *et al.*, 2008). Além disso, os óleos essenciais são fonte de metabólitos secundários que estão diretamente relacionados com mecanismos de defesa das plantas (SINGH; DWIVEDI, 2018).

Moraes (2009) afirma que o controle de doenças de plantas, fundamentado na utilização de óleos essenciais, tem grande aplicação prática. O autor cita também que tais substâncias naturais, são, muitas vezes, de fácil obtenção e baixo custo, sem resíduo tóxico e são uma alternativa para o controle de doenças de plantas, pois, na maioria, são sistêmicos, de fácil degradação e pouco ou não fitotóxicos.

Diversas pesquisas vêm sendo realizadas com a aplicação de óleos essenciais em frutos, inclusive com morangos. Estudos de Asghari *et al.* (2009), em morangos, demonstraram que o uso do óleo essencial de cominho (*Cuminum cyminum* L.) é uma forma natural e segura para a prevenção de infecção pós-colheita de fungos, e até mesmo aumenta a vida de prateleira, porém, indicam que mais estudos *in vivo* são necessários. Campos *et al.* (2016) revelaram que a

aplicação pós-colheita de óleo essencial de sálvia-comum (*Salvia officinalis* L.) e tomilho (*T. vulgaris*), em morangos, reduziu a incidência de podridões causadas por *B. cinerea* e *Rhizopus* sp, e ainda tem potencial para aumentar a vida de prateleira dos frutos. Ainda, Aguilar-González, Palou e López-Malo (2015) constataram o efeito antifúngico dos vapores dos óleos essenciais de cravo (*S. aromaticum*) e/ou mostarda (*B. nigra*), sobre o desenvolvimento de *B. cinerea* em morangos, em testes *in vitro* e *in vivo*, atribuindo tal efeito aos principais compostos dos óleos testados: eugenol e isotiocianato de alila.

A aplicação do óleo essencial de tomilho mostrou-se eficiente na dose de 500 $\mu\text{L L}^{-1}$, quando aplicados *in vivo* por pulverização, revelando um efeito fungicida para pêssegos infectados por podridão-parda (*Monilinia laxa*, *M. fructigena* e *M. fructicola*), durante a pós-colheita (ELSHAFIE *et al.*, 2015). Os mesmos autores indicam ainda a possibilidade da aplicação deste óleo essencial combinado a outras tecnologias pós-colheita como agentes de biocontrole. Vilaplana, Pazmiño e Valencia-Chamorro (2018) mostraram que a dose de 500 $\mu\text{L L}^{-1}$ de óleo de tomilho pode ser utilizada como alternativa ao tratamento com imazalil em bananas orgânicas, sendo proposto então para proteger os frutos no controle da antracnose causada por *C. musae*. Os autores ainda constataram que a utilização do óleo essencial atrasou o amadurecimento das frutas, e também observaram que as bananas orgânicas tratadas com 500 $\mu\text{L L}^{-1}$ de óleo de tomilho poderiam ser armazenadas com boa qualidade sensorial até 21 dias a 13 °C mais 12 dias a 20 °C.

Em experimentos feitos por Rguez *et al.* (2018), o óleo essencial de *Cupressus sempervirens* L. pode ser uma alternativa ao uso de fungicidas em tomate, contra podridões que ocorrem durante o armazenamento e transporte. Os autores verificaram que o uso deste óleo essencial, ou a combinação de seus compostos majoritários (α -pineno e β -cariofileno), causa danos e alterações morfológicas aos conídios de *B. cinerea*, o que demonstra um efeito fungitóxico do óleo no patógeno.

El Ouadi e colaboradores (2017) demonstraram em seu trabalho que o óleo essencial de *Melissa officinalis* é um agente antifúngico eficaz contra *B. cinerea*, *Penicillium expansum* Link, (1809) e *R. stolonifer*, patógenos pós-colheita, sendo considerado uma alternativa aos fungicidas sintéticos para a proteção de maçãs, pois é biodegradável e não persiste no ambiente.

Segundo Heredia *et al.* (2018), devido a hidrofobicidade dos óleos essenciais e seus componentes, os mesmos são capazes de interagir com as membranas celulares, afetando a ordem lipídica e a estabilidade da bicamada, diminuindo a integridade da membrana e aumentando o fluxo passivo de prótons através da membrana. Como consequência, as

membranas se tornam mais permeáveis e pode haver vazamento de diferentes moléculas e íons que, eventualmente, resultarão em morte celular. Segundo os autores, os óleos essenciais podem provocar dois tipos de toxicidade: citotoxicidade e fototoxicidade. A primeira seria quando um óleo essencial danifica as membranas celulares e organelares, onde os óleos essenciais podem atuar como prooxidantes em diferentes moléculas, como proteínas e ácidos nucleicos, com posterior produção de espécies reativas de oxigênio. Na segunda, esses óleos podem passar através das membranas celulares sem resultar em nenhum tipo de dano aos organismos até que sejam expostos à ativação pela luz; ocorrendo reações radicais pela excitação de moléculas, e como consequência, a célula pode sofrer danos em diferentes moléculas, incluindo DNA, lipídios e proteínas.

2.7 ÓLEO ESSENCIAL DE MELALEUCA

A *Melaleuca alternifolia* L. (1767) pertencente à família Myrtaceae é uma árvore originária da Austrália, que pode crescer até 8 metros de altura e floresce em condições pantanosas e adjacente a cursos de água no leste do país de origem (RUSSELL; SOUTHWELL, 2002). Comumente conhecida como “árvore do chá australiana”, o óleo essencial de melaleuca (OEM), extraído das folhas, é rico em terpinen-4-ol, dando ao óleo propriedades antifúngicas e antibacterianas (RUSSELL; SOUTHWELL, 2002). Carson e Riley (1995) afirmam que o OEM é uma mistura complexa de hidrocarbonetos e terpenos que consiste em aproximadamente 100 componentes, e a concentração destes pode variar de amostra para amostra, dependendo da época de coleta do material, o local, o solo, dentre outros fatores.

Diversos trabalhos demonstram o efeito antifúngico, antibactericida e o efeito anti-inflamatório deste óleo essencial, em humanos e animais (CALDEFIE-CHÉZET, *et al.*, 2006; COX, *et al.*, 2000; FLORES *et al.*, 2013; NOUMI *et al.*, 2011; SALVATORI *et al.*, 2017). No entanto, ainda há poucos estudos sobre a ação do OEM em patógenos de plantas. Terzi *et al.* (2007) avaliaram o efeito do OEM em três patógenos de plantas, *in vitro*, *Fusarium graminearum* (Schwein.) Petch, (1936), *F. culmorum* (Wm.G.Sm.) Sacc. (1892) e *Pyrenophora graminea* S. Ito & Kurib. (1931), e confirmaram que exerce atividade antifúngica. Ainda, Angelini, Pagiotti e Granetti (2008) testaram a capacidade *in vitro* do OEM em controlar *Trichoderma harzianum* Rifai, (1969), e constataram que o mesmo pode ser uma alternativa aos produtos químicos sintéticos, usados atualmente para prevenir e controlar o patógeno no cultivo de cogumelos. Riccioni e Orzali (2011) testaram o OEM quanto à sua atividade

antifúngica, *in vitro*, para investigar a possibilidade de seu uso no tratamento de sementes, e atestaram que este possui eficácia em diferentes tipos de patógenos vegetais [*F. culmorum*, *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. & Magnus) Briosi & Cavara, (1889), *Ascochyta rabiei* (Pass.) Labr., (1931), *Alternaria dauci* (J.G. Kühn) J.W. Groves & Skolko, (1944), *A. radicina* Meier, Drechsler & E.D. Eddy, (1922) e *Drechslera avenae* (M.A. Curtis ex Cooke) Shoemaker, (1959)], sendo de baixo custo e fácil disponibilidade.

A aplicação pós-colheita do OEM em frutas também vem sendo investigado. Shao *et al.* (2013) testaram a aplicação do vapor do OEM em frutos de morango e concluíram que houve redução do mofo cinzento e da podridão mole infectados artificialmente. Wei *et al.* (2018) constataram que a aplicação do vapor do OEM reduziu a incidência de podridões causadas por *B. cinerea* em morangos. Kong *et al.* (2020) obtiveram resultados onde há uma evidência de que o OEM foi eficaz no controle de *Aspergillus ochraceus* Wilhelm, (1877) em uvas de mesa após a colheita. Tendo em vista os trabalhos citados, é evidente que o OEM tem potencial para aplicação em pós-colheita de frutas.

3 OBJETIVOS

Os objetivos deste trabalho foram avaliar o efeito do OEM sobre podridão pós-colheita causada por *Botrytis cinerea* em morangos cultivares San Andreas e Albion e sobre a qualidade sensorial de morangos cultivares San Andreas e Albion.

4 MATERIAL E METÓDOS

4.1 AMOSTRAGEM E APLICAÇÃO DOS TRATAMENTOS

O experimento foi realizado com morangos ‘San Andreas’ e ‘Albion’, oriundos de área de produção comercial orgânica localizada no município de Lages, SC (27°46' W; 50°12' S; 930 m de altitude). Os frutos da cultivar San Andreas, da safra 2019, foram colhidos em 02 de maio de 2019; os frutos da cultivar Albion, da safra 2020, foram colhidos em 28 de fevereiro de 2020. Os frutos foram colhidos na maturidade comercial para consumo, com 75% de cor vermelho brilhante na superfície da fruta, e após a colheita, transportados ao Laboratório de Fisiologia e Tecnologia Pós-colheita do CAV/UDESC. Por conseguinte, os frutos foram padronizados por tamanho, cor, maturação e ausência de danos e infecções visualmente aparentes e separados por unidade amostral para aplicação dos tratamentos.

Para a cultivar ‘San Andreas’, 240 frutos foram sanitizados com uma solução de hipoclorito de sódio 150 $\mu\text{L L}^{-1}$ por 5 minutos, enxaguados com água destilada e estéril e deixados secar em temperatura ambiente por 2 horas (BORGES *et al.*, 2013). Posteriormente, cada fruto foi inoculado com uma alíquota de 5 μL de uma suspensão de esporos (10^5 esporos mL^{-1}) de *B. cinerea* em um dos lados do fruto, em lesões com profundidade de 3 mm, previamente realizadas com uma ponteira de diâmetro de 2 mm (SHAO *et al.*, 2013).

Para a cultivar Albion, o método de sanitização e de inoculação foi modificado, tendo em vista que para a cultivar San Andreas, mesmo após a sanitização, os frutos apresentaram podridões na região dos frutos não inoculada, presumindo-se que a sanitização não foi efetiva. Sendo assim, 300 frutos foram sanitizados com álcool etílico 70% por 5 minutos e deixados secar em temperatura ambiente por 1 hora. Após a secagem, foi borrifada uma suspensão de esporos (10^5 esporos mL^{-1}) de *B. cinerea* em apenas um dos lados dos frutos, para a inoculação dos mesmos. Foram realizados testes prévios com diferentes agentes sanitizantes para a sanitização dos frutos, sendo o melhor resultado obtido com o procedimento descrito acima,

Os tratamentos da cultivar San Andreas foram compostos de quatro concentrações: 0, 100, 300 e 600 $\mu\text{L L}^{-1}$ do OEM, constituídos de 4 repetições cada, sendo que cada unidade amostral continha 15 frutos inoculados com *B. cinerea* para avaliação de incidência e severidade, e 20 frutos não inoculados para avaliações de qualidade. Para a cultivar Albion, os frutos inoculados foram compostos de três concentrações: 0, 50 e 250 $\mu\text{L L}^{-1}$ do OEM, constituídos de 5 repetições cada, sendo que cada unidade amostral continha 15 frutos inoculados com *B. cinerea* para avaliação de incidência e severidade; os frutos não inoculados

foram tratados com três concentrações: 0, 50 e 200 $\mu\text{L L}^{-1}$ do OEM, constituídos de 5 repetições cada, sendo que cada unidade amostral foi composta de 20 frutos para avaliações de qualidade. Em ambos os experimentos foi utilizado OEM adquirido da empresa Ferquima Industria e Comércio de Óleos Essenciais.

Os tratamentos para ambas cultivares foram aplicados por fumigação, de forma que os frutos foram alocados em tambores de 30 L com fechamento hermético (ANEXO A). Elaborou-se um sistema fechado onde o óleo essencial era volatilizado com o auxílio de um nebulizador (G-TECH, modelo NEBBCOM V, Brasil), durante 12 horas.

Na colheita os frutos foram analisados quanto a força para penetração do fruto, sólidos solúveis, acidez titulável, cor da epiderme, em termos de ângulo *hue* (h°), lightness (L^*) e croma (C), e taxa respiratória.

Após aplicado os tratamentos, os frutos ficaram em condições ambiente ($23\pm 3^\circ\text{C}$ e U.R. de $80\pm 2\%$) por 2 dias para a cultivar San Andreas e 3 dias para a cultivar Albion, onde os inoculados foram avaliados quanto a incidência e severidade de podridão (a cada 12 horas para a cultivar San Andreas, e a cada 24 horas para a cultivar Albion) e os não inoculados avaliados quanto aos seguintes atributos: incidência e severidade de podridão, força para penetração do fruto, sólidos solúveis, acidez titulável, cor da epiderme (h° , L^* e C), taxas respiratória e de produção de etileno, teor de compostos fenólicos totais, atividade da enzima peroxidase e perfil de compostos voláteis.

4.2 ANÁLISES DE QUALIDADE

Os valores de acidez titulável (AT; % de ácido cítrico) foram obtidos através de uma amostra de 5 mL de suco, obtido pelo processamento dos frutos em uma centrífuga. Essa amostra foi diluída em 45 mL de água destilada e titulada com solução de NaOH 0,1 N até pH 8,1, utilizando titulador automático (SCHOTT Instruments, modelo TitroLine Easy, Alemanha).

Os teores de sólidos solúveis (SS; °Brix) foram determinados em um refratômetro digital (Atago®, modelo PR201 α , Japão), utilizando uma alíquota do suco obtido pelo processamento dos frutos.

A cor da epiderme foi avaliada em termos de valores de luminosidade (L^* , “lightness”), croma (C) e ângulo ‘*hue*’ (h°), com o auxílio de um colorímetro (Konica Minolta®, modelo CR 400, Japão). As leituras foram realizadas em dois pontos opostos da região mediana dos frutos.

A força para penetração da polpa (N) foi determinada com um texturômetro eletrônico (Stable Micro Systems Ltd., modelo TAXT-plus[®], Reino Unido), utilizando uma ponteira com 2 mm de diâmetro, a qual foi introduzida no fruto a uma profundidade de 5 mm, com velocidades pré-teste, teste e pós-teste de 30, 3 e 30 mm s⁻¹, respectivamente.

As taxas respiratórias ($\eta\text{mol de CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ s}^{-1}$) e de produção de etileno ($\eta\text{mol C}_2\text{H}_4 \text{ kg}^{-1} \text{ s}^{-1}$) foram quantificadas por analisador de gases e cromatografia gasosa, respectivamente. Frutos de cada repetição foram acondicionados em recipientes de 1,05 L, com fechamento hermético. As taxas respiratória e de produção de etileno foram obtidas pela diferença da concentração de CO₂ e C₂H₄, respectivamente, no interior do recipiente, imediatamente após o seu fechamento e depois de meia hora. Para análise de CO₂ no interior dos recipientes, foi utilizado um analisador de gases O₂ e CO₂ (Schele electronic[®], Alemanha). Para a análise de etileno uma seringa plástica de 1,0 mL, foram coletadas três amostras da atmosfera do espaço livre destes recipientes, as quais foram injetadas em um cromatógrafo a gás (PerkinElmer[®], modelo Clarus 580, EUA), equipado com uma coluna Porapak N[®] de 3 m de comprimento (80-100 mesh) e detector (FID) de ionização de chama. As temperaturas da coluna, do detector e do injetor foram de 90; 240; e 120°C, respectivamente. Os fluxos de nitrogênio, hidrogênio e ar sintético foram de 70; 45 e 450 mL min⁻¹, respectivamente.

4.3 INCIDÊNCIA E SEVERIDADE DE PODRIDÃO

A incidência de podridão foi determinada pelo número de frutos com presença de sintoma de podridão causada pelo fungo em relação ao total de frutos analisados.

Para a área abaixo da curva de progresso da doença de incidência (AACPD_i), foi utilizada a seguinte fórmula (SHANER; FINNEY, 1977):

$$\text{AACPD}_i = \sum [(I + I+1)/2].[(T_{i+1}-T_i)]$$

Onde, AACPD_i = área abaixo da curva de progresso da doença, incidência; I = incidência da doença, índice da podridão iésima observação; I+1 = incidência da doença, índice da podridão na avaliação I + 1; T_i = tempo em horas da iésima observação; T_{i+1} = horas da avaliação i + 1.

$$I = (N_i / N_t) * 100$$

Onde, I = incidência em %; N_i = número de frutos/inoculações com lesões dos patógenos, dependendo do lote de frutos; N_t = número total de frutos/inoculações.

A severidade foi avaliada por índice, segundo uma escala de notas, onde: 1= até 25% do fruto com podridão; 2 = de 26–50%; 3 = de 51–75%; 4 = mais de 75% do fruto com podridão. O índice foi avaliado nos frutos inoculados com *B. cinerea*, a 0, 12, 24 e 36 h após a aplicação dos tratamentos.

Os dados obtidos foram utilizados para o cálculo da área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD).

A AACPDs foi determinada com a fórmula:

$$\text{AACPDs} = \sum [(S_i + S_{i+1})/2] \cdot [(T_{i+1} - T_i)]$$

Onde, AACPDs = área abaixo da curva de progresso da doença, severidade; S_i = severidade da doença, índice da podridão iésima observação; S_{i+1} = severidade da doença, índice da podridão na avaliação $i + 1$; T_i = tempo em horas da iésima observação; T_{i+1} = horas da avaliação $i + 1$. A S_i foi calculada com a soma dos índices, dividida pelo total de frutos.

4.4 COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS (CFT)

4.4.1 Preparação das amostras

Os CFT foram analisados nos frutos. Para a obtenção da amostra, os frutos de cada repetição foram cortados de forma longitudinal, em quatro partes, onde uma porção foi separada para compor a amostra destas análises. As amostras foram congeladas em nitrogênio líquido e processadas com um triturador vertical (Britânia, modelo Liq Fit Inox, Brasil), e maceradas em almofariz com nitrogênio líquido.

4.4.2 Obtenção dos extratos para quantificação de CFT e AAT

Para a obtenção dos extratos foi utilizado 5 g da amostra e homogeneizado com 10 mL de etanol acidificado (0,01% de HCl) em ultraturrax (Heidolph, modelo SilentCruscher M, Alemanha). Foi colocado o homogenato em repouso por 60 min à temperatura ambiente e em

seguida centrifugado (4 °C) em centrífuga (Hitachi, modelo CR22N, Japão), por 10 min a 10.000 rpm. Foi filtrado o sobrenadante em balão volumétrico de 10 mL. Os extratos foram reservados para análise de CFT.

4.4.3 Determinação do conteúdo de CFT

A determinação do teor CFT foi realizada empregando o reagente de Folin-Ciocalteu (Sigma-Aldrich, EUA), conforme descrita por Roesler *et al.* (2007). Inicialmente foi preparada a solução de ácido gálico, utilizando 10 mg de ácido gálico (BIOTEC, Brasil) em 100 mL de metanol P.A (Anidrol Produtos para Laboratórios Ltda, Brasil). Em seguida foi preparada a solução de carbonato de sódio (Cinética Produtos Químicos, Brasil), para a qual foi usada 10 g do reagente e feita a diluição em água destilada em balão de 100 mL. A solução Folin-Ciocalteu foi diluída na proporção de 1:3 (Folin-Ciocalteu:água destilada). Para a obtenção da curva padrão do ácido gálico foi pipetado em tubos de ensaio diferentes alíquotas de metanol e da solução de ácido gálico na concentração de 0, 10, 30, 50, 70, 90 e 100 $\mu\text{L L}^{-1}$. Para análise foram adicionados em cada tubo, na ordem, 2,5 mL de Folin-Ciocalteu, 0,5 mL de amostra (diluída na proporção de 1:15; amostra:água destilada) e 2,0 mL da solução de carbonato de sódio (Cinética Produtos Químicos, Brasil) 10%. Para o branco, foram utilizados os mesmos reagentes citados anteriormente e 0,5 mL de metanol, substituindo a amostra. Os tubos foram agitados em vortex (Gehaka, modelo AV-2, Brasil) e em seguida incubados por uma hora ao abrigo da luz. As amostras foram centrifugadas e a leitura realizada em leitora de microplacas (PerkinElmer, modelo EnSpire, EUA), no comprimento de onda de 765 nm. Os resultados foram expressos em mg de equivalentes de ácido gálico por 100 g da amostra (mg EAG 100 g⁻¹).

4.5 ATIVIDADE DA ENZIMA PEROXIDASE (POD)

Todas as etapas necessárias ao processo de determinação da atividade enzimática foram executadas a 4 °C.

A atividade da enzima POD foi determinada conforme método descrito por Hammerschmidt, Nuckles e Kuć (1982), com modificações. Desta forma, em 0,5 g da amostra fresca (já macerado em nitrogênio líquido) foram adicionados 5 mL de tampão fosfato de potássio 0,100 M (pH 7,0) (Vetec, Brasil) contendo 1 mM de polivinilpirrolidona insolúvel

(PVPP) (Vetec, Brasil) e 1 mM de ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) (Synth, Brasil) para cada 100 mL de tampão, homogeneizado em ultraturrax (Heidolph, modelo SilentCruscher M, Alemanha) por 1 minuto e adicionado 0,1% de triton (v/v) (Vetec, Brasil). O extrato foi mantido em repouso por 15 minutos a 8 °C e após centrifugado a 12.000 rpm por 10 min a 4 °C em centrífuga (Hitachi, modelo CR22N, Japão). 1 mL do sobrenadante foi usado para o ensaio enzimático. Imediatamente após a adição de 2 mL de uma mistura reacional contendo tampão fosfato de potássio (Vetec, Brasil):guaiacol (Vetec, Brasil):H₂O₂ (Vetec, Brasil) (5 mL:0,0125 mL:0,0163 mL) foi definida a atividade enzimática como o aumento da absorbância por minuto, quantificada a 470 nm em leitura de microplacas (PerkinElmer, modelo EnSpire, EUA), sendo o resultado expresso em DO mg⁻¹ de proteínas minuto⁻¹.

4.6 ANÁLISE DE COMPOSTOS VOLÁTEIS

Os compostos voláteis foram analisados nos frutos. Para a obtenção das amostras, os frutos de cada repetição foram cortados de forma longitudinal, em quatro partes, onde uma porção foi separada para compor a amostra destas análises. As amostras foram processadas com um triturador vertical (Philips Walita, modelo RI1364, Brasil) e armazenadas em tubos falcon, em freezer.

Foi tomada uma alíquota de 1 g da amostra, misturada com 1 g de NaCl (Anidrol, Brasil) e 5 mL de água destilada e colocada dentro de vials de 20 mL selados com tampa de rosca e septo de silicone revestido com PTFE (Agilent Technologies, Alemanha). Para extrair compostos voláteis do espaço acima da amostra líquida, no interior do vial (*head space*), as amostras foram submetidas a microextração em fase sólida (HS-SPME), utilizando fibra revestida com sorvente de divinilbenzeno/carboxeno/polidimetilsiloxano (DVB/CAR/PDMS) (1 cm de comprimento, 50/30 µm de espessura, Supelco, StableFlex™, EUA). Os frascos contendo as amostras foram submersos em banho-maria a 35°C durante 5 min. Depois, a fibra SPME foi exposta ao espaço de cada amostra por 30 min sob agitação constante e temperatura controlada de 35°C. Após a fibra ficar exposta ao espaço, a mesma foi injetada no cromatógrafo, com tempo de dessorção de 5 min.

O CG foi equipado com uma coluna capilar Perkin Elmer Elite-5MS 30 m x 0,25 mm d.i., com espessura de 0,25 µm. O tempo total da corrida foi de 37 min, com uma temperatura inicial de 40°C durante 3 min, uma rampa de aquecimento a uma taxa de 2°C min⁻¹ até a temperatura máxima de 60°C, após, 10°C min⁻¹ até a temperatura máxima de 130°C que foi mantida por 8 min e outra rampa de aquecimento a uma taxa de 20°C min⁻¹ até a temperatura

máxima de 280°C, que foi mantida por 1.5 min. A temperatura do injetor e do detector foi de 250°C, e utilizou-se o gás hélio como gás de arraste a uma vazão de 1,5 mL min⁻¹.

Os compostos voláteis foram quantificados por um cromatógrafo gasoso (PerkinElmer, modelo Clarus[®] 680, EUA), acoplado a espectrômetro de massas (PerkinElmer, modelo Clarus[®] SQ 8 S, EUA). A identificação dos compostos foi baseada na própria biblioteca do cromatógrafo, que indicava a probabilidade da similaridade do composto da amostra com os dados contidos no software. A semiquantificação dos compostos foi realizada com 2 µL de um padrão de n-alkanos C7-C40 (Sigma-Aldrich, EUA) lida nas mesmas configurações da corrida das amostras, e a área de cada composto foi calculada a partir da área n-alcano mais próximo (RUIZ-HERNANDEZ *et al.*, 2018).

4.7 AVALIAÇÃO FUNGITÓXICA *in vitro* DO ÓLEO ESSENCIAL

Foi avaliado o efeito do OEM sobre o crescimento do micélio de *B. cinerea in vitro*. O isolado utilizado foi o 223, da Micoteca do Laboratório de Fitopatologia. O óleo foi pipetado em adesivo de papel fixado na tampa de uma placa de Petri de vidro (90x90mm), de acordo com os volumes que foram testados (10, 50, 100, 500, 1.000 e 2.000 µL L⁻¹) e então a mesma foi vedada com filme PVC. Em cada placa de Petri foi inserido sobre o meio de cultura BDA (batata-dextrose-água) um disco de 7 mm de diâmetro com o fungo *B. cinerea* proveniente de colônias com 10 dias de crescimento. Um tratamento controle foi utilizado inserindo um disco com o fungo em meio BDA. As placas de Petri foram acondicionadas em uma câmara de crescimento com condições controladas de temperatura e fotoperíodo, sendo estas 23±2°C e fotoperíodo de 12 horas. Foram utilizadas 10 placas para cada tratamento, cada placa de Petri representou uma repetição, seguindo um delineamento experimental inteiramente casualizado. Foi avaliado diariamente o diâmetro de colônia (mm) com o auxílio de uma régua milimetrada. O ensaio *in vitro* foi feito em triplicata.

O percentual de controle da lesão (PC) foi calculado com base no diâmetro médio das colônias, obtido pelo uso da seguinte fórmula:

$$PC (\%) = [(Sc - Soe)/Sc]*100$$

Onde, Sc = severidade do tratamento controle; Soe = severidade dos tratamentos com diferentes doses de OEM.

Para a contagem e viabilidade de esporos, nos tratamentos onde houve crescimento micelial, as placas foram “raspadas” com a alça de Drigalski, fechadas com filme PVC e colocadas em uma sala de crescimento com temperatura controlada de 23°C e sem luz. Após sete dias, foi adicionado uma solução de 20 mL de água destilada com Tween[®] 80% (Sigma-Aldrich, Alemanha) em cada placa, e posteriormente feita a raspagem. Uma alíquota de 200 µL foi utilizada para a contagem de esporos na câmara de Neubauer (NewOptics, Brasil), com o auxílio de um microscópio (Carl Zeiss, Alemanha). Para a viabilidade, uma alíquota de 100 µL foi colocada em uma lâmina, e esta colocada em uma caixa gerbox, com papel para germinação (Germitest[®], Portugal) umedecido com água destilada. As caixas gerbox foram colocadas em uma sala de crescimento com temperatura de 23±2°C e sem luz e, após 24 e 48 h, foi realizada a contagem de esporos germinados (foi considerado germinado quando o tubo germinativo era maior que o esporo) com o auxílio de um microscópio .

4.8 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

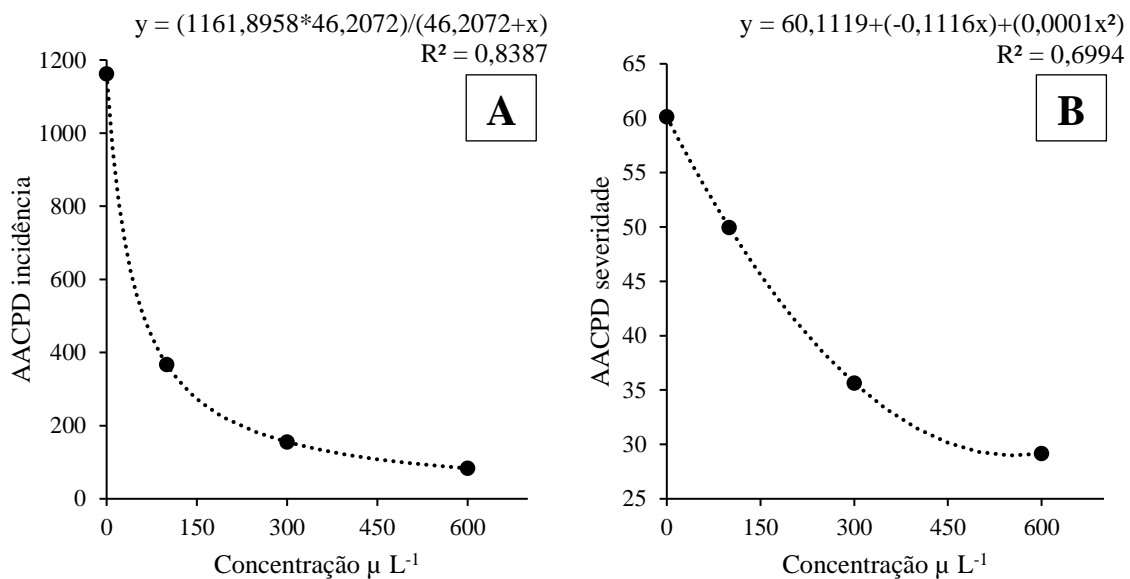
O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado. Os dados de AACPDs, AACPDi e PC da cultivar San Andreas foram submetidos à análise de regressão. Os dados de qualidade da cultivar San Andreas e de produção e viabilidade de esporos *in vitro* à análise de contrastes ortogonais polinomiais pelo programa estatístico SAS (Institute, Inc., Cary, NC). Os dados de AACPDs, AACPDi e PC e os dados de qualidade da cultivar Albion foram submetidos à análise da variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) pelo programa estatístico SAS. Os dados de PC e de viabilidade de esporos (*in vitro*) foram transformados pela equação arco-seno $[(x+0,5)/100]^{1/2}$ antes de serem submetidos às suas respectivas análises estatísticas.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A aplicação via fumigação do OEM reduziu a área abaixo da curva de progresso da doença para a incidência (AACPD_i) de *B. cinerea* em morangos ‘San Andreas’, sendo menor com o incremento na concentração de OEM (Figura 2 A). Na menor dose do OEM (100 µL L⁻¹) pode-se observar uma redução de 64% na incidência do patógeno nos frutos, e, ainda, a maior dose (600 µL L⁻¹) reduziu em 95% a incidência. Para área abaixo da curva de progresso da doença para a severidade (AACPD_s) nos morangos ‘San Andreas’, a aplicação do OEM obteve comportamento semelhante a AACPD_i de *B. cinerea*. Na dose de 100 µL L⁻¹ houve um decréscimo de 23% na severidade e nas doses de 300 e 600 µL L⁻¹, 41% e 45%, respectivamente, comparados ao controle (Figura 2 B). Na cultivar Albion a aplicação de OEM também reduziu a AACPD_i e a AACPD_s de *B. cinerea* em morangos ‘Albion’, mas sem diferença entre as concentrações de 50 e 250 µL L⁻¹ (Tabela 1). Alguns autores também constataram que a aplicação de OEM reduz a incidência e a severidade de diversas doenças. Shao *et al.* (2013) aplicaram 0,9 g L⁻¹ de OEM em morangos e verificaram uma redução de 55% na incidência e 5 mm no diâmetro da lesão causada por *B. cinerea*. Wei *et al.* (2018) constataram uma redução de 43% na incidência e 7 mm na severidade de *B. cinerea*, ao aplicarem 0,9 g L⁻¹ de OEM em morangos. Li *et al.* (2017) demonstraram que a incidência de *B. cinerea* em cerejas reduziu 50% e a severidade reduziu 12 mm de diâmetro de lesão, com a aplicação de 10 µL L⁻¹ de OEM. Shao *et al.* (2013) obtiveram redução de 80% na incidência e 7,5 mm no diâmetro da lesão causada por *R. stolonifer* em morangos. Kong *et al.* (2020) atestaram que a aplicação 2 mL L⁻¹ de OEM em uvas reduziu em 1,9 mm o diâmetro da lesão causada por *Aspergillus ochraceus*. Li *et al.* (2017) detectaram uma redução na incidência de *P. expansum* em cerejas de 18% e da severidade em 7 mm de diâmetro de lesão, com a aplicação de 10 µL L⁻¹ de OEM. Rocha Neto *et al.* (2019), por sua vez, observaram que a aplicação de 0,25 g L⁻¹ de OEM em maçãs ‘Fuji’ não reduziu a severidade de *P. expansum*. Sendo assim, fica evidente que o OEM tem efeito fungicida contra alguns patógenos, com resultados relacionados com a composição do óleo essencial utilizado. No caso do OEM, o composto majoritário é o terpinen-4-ol e tem efeito antifúngico, anti-inflamatório e antiviral (YADAV *et al.*, 2016). Sua propriedade antifúngica está relacionada com modificações na permeabilidade da membrana dos fungos, podendo ser este efeito irreversível (YADAV *et al.*, 2016). Li *et al.* (2017) ao compararem o efeito do OEM em dois patógenos diferentes, constataram que o *P. expansum* é menos sensível ao OEM do que o *B. cinerea* e relacionam esta diferença na atividade antifúngica aos diferentes efeitos

exercidos pelo OEM sobre o teor de lipídios totais e ergosterol nesses organismos, bem como aos diferentes níveis de inibição observados no metabolismo respiratório.

Figura 2 – Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), para incidência e severidade de *Botrytis cinerea*, em morangos ‘San Andreas’ submetidos as doses de 0, 100, 300 e 600 $\mu\text{L L}^{-1}$ de óleo essencial de melaleuca (*Melaleuca alternifolia*), e mantidos por 36 h em condições ambiente ($23\pm 2\text{ }^\circ\text{C/UR de }60\pm 5\%$).



Fonte: Elaborada pela autora, 2020.

Tabela 1 – Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), para incidência e severidade, de *Botrytis cinerea*, em morangos ‘Albion’ submetidos as doses de 0, 50 e 250 $\mu\text{L L}^{-1}$ de óleo essencial de melaleuca (*Melaleuca alternifolia*), e mantidos por 36 h em condições ambiente ($23\pm 2\text{ }^\circ\text{C/UR de }60\pm 5\%$).

Tratamentos	AACPD _i	AACPD _s
0 $\mu\text{L L}^{-1}$	2130 A	22,9 A
50 $\mu\text{L L}^{-1}$	1170 B	13,1 B
250 $\mu\text{L L}^{-1}$	600 B	8,0 B
C.V. (%)	28,4	22,5

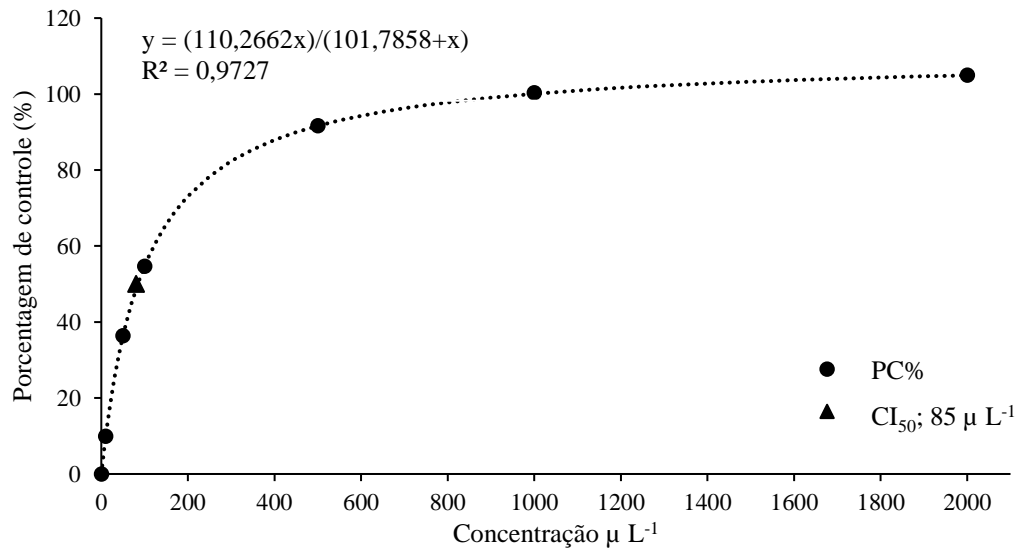
Nota: Médias seguidas por letras iguais na coluna, para cada método de tratamento, não diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Fonte: Elaborada pela autora, 2020.

No experimento *in vitro* as doses de 1.000 e 2.000 $\mu\text{L L}^{-1}$ apresentaram 100% de controle de *B. cinerea* (Figura 3). No entanto, a dose de 500 $\mu\text{L L}^{-1}$ também se mostrou eficiente, com 91% de controle do patógeno e, ainda, a dose de 100 $\mu\text{L L}^{-1}$ obteve uma PC de 55%. Complementando os dados encontrados no experimento *in vitro*, através do ajuste da equação de regressão pode-se estimar a concentração inibitória de 50% (CI_{50}), que seria a dose de 85,5 $\mu\text{L L}^{-1}$ de OEM. A aplicação do OEM, no experimento *in vitro*, mostrou um efeito na inibição completa da produção de esporos de *B. cinerea* nas maiores doses (500, 1.000 e 2.000 $\mu\text{L L}^{-1}$) (Tabela 2).

Cheng e Shao (2011), observaram que a aplicação de 50 $\mu\text{L L}^{-1}$ de OEM inibe o crescimento micelial de *B. cinerea* em 50%, sendo que a dose de 80 $\mu\text{L L}^{-1}$ obteve 100% de controle do patógeno, *in vitro*. Estes resultados são semelhantes aos encontrados no experimento *in vitro* desta pesquisa, no entanto, a dose que inibe 50% do crescimento micelial seria de 85,5 $\mu\text{L L}^{-1}$ e a que inibe 100% seria de 1.000 $\mu\text{L L}^{-1}$. Estas diferenças na porcentagem de inibição com relação a concentração do OEM podem estar relacionadas a agressividade do patógeno utilizada pelos autores e ao utilizado nesta pesquisa. Li *et al.* (2017) apresentaram resultados similares aos encontrados nesta pesquisa, onde testaram o OEM em *B. cinerea* e obtiveram 77%, 99% e 100% de controle quando testaram as doses de 1.000 $\mu\text{L L}^{-1}$, 1.500 $\mu\text{L L}^{-1}$ e 2.000 $\mu\text{L L}^{-1}$, respectivamente. Estes autores verificaram que a aplicação do OEM reduziu o teor de lipídios totais e o ergosterol do fungo e que talvez o efeito seja o aumento da permeabilidade da membrana e resultante morte micelial, e, ainda, observaram diferentes níveis de inibição no metabolismo respiratório do patógeno. Yu *et al.* (2015) testaram o efeito do OEM e de seus compostos majoritários, *in vitro*, em *B. cinerea*, e verificaram que o terpinen-4-ol é o inibidor de crescimento micelial mais eficaz contra o fungo, sendo que atua sinergicamente com o eucaliptol. O eucaliptol pode penetrar na célula e danificar organelas celulares sem afetar a permeabilidade da membrana e, em contraste, o terpinen-4-ol, destrói a integridade da membrana e aumenta a permeabilidade, resultando em vazamento de íons e disfunção da membrana (Yu *et al.*, 2015).

Figura 3 – Porcentagem de controle (%), *in vitro*, com base no crescimento micelial de *Botrytis cinerea*, isolado em meio BDA, após 5 dias de incubação a $23\pm 2^{\circ}\text{C}$ e 12 h de fotoperíodo, com o óleo essencial de melaleuca (*Melaleuca alternifolia*) fumigado nas doses de 0, 10, 50, 100, 500, 1.000 e 2.000 $\mu\text{L L}^{-1}$.



Nota: CI₅₀: concentração inibitória de 50%.

Fonte: Elaborada pela autora, 2020.

Tabela 2 – Produção (número de esporos mL^{-1}) e viabilidade (%) de esporos de *Botrytis cinerea*, após 24 e 48 horas incubados a $23\pm 2^{\circ}\text{C}$ e com ausência de luz em meio de cultura BDA com diferentes doses de óleo essencial de melaleuca.

Tratamentos	Esporos mL^{-1} (10^4)	Viabilidade	
		24h	48h
0 $\mu\text{L L}^{-1}$	5,1	92	99
10 $\mu\text{L L}^{-1}$	41,6	0	4
50 $\mu\text{L L}^{-1}$	32,8	0	0
100 $\mu\text{L L}^{-1}$	19,5	5	6
500 $\mu\text{L L}^{-1}$	0	0	0
1.000 $\mu\text{L L}^{-1}$	0	0	0
2.000 $\mu\text{L L}^{-1}$	0	0	0
<i>Linear</i>	*	*	*
<i>Quadrático</i>	*	*	*
C.V.	62,9	6,57	6,62

Nota: Dados submetidos a análise de contrastes ortogonais polinomiais. ns: não significativo. *significativo a 0,1% de probabilidade de erro.

Fonte: Elaborada pela autora, 2020.

Na colheita os frutos da cultivar San Andreas apresentaram cor da epiderme 35,3 L*, 49,8 C e 36,2 h°, SS de 6,8 °Brix, AT de 1,15%, força para penetração da polpa de 1,5 N e taxa respiratória de 1.031,9 $\eta\text{mol de CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ s}^{-1}$. Os frutos da cultivar Albion apresentaram cor da epiderme 45,1 L*, 45,0 C, 44,3 h°, SS 8,0°Brix, AT 1,3%, força para penetração da polpa 1,5 N e taxa respiratória de 245,5 $\eta\text{mol de CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ s}^{-1}$.

As taxas respiratória e de produção de etileno de morangos ‘San Andreas’ reduziram conforme a dose do OEM aumentou, sendo esta redução de 70% e 85%, respectivamente, nos frutos onde a dose foi de 600 $\mu\text{L L}^{-1}$, quando comparado ao controle (Tabela 3). A cultivar ‘Albion’ apresentou comportamento oposto em relação a taxa respiratória dos frutos, havendo acréscimo com incremento na dose aplicada do OEM (Tabela 4). Mesmo havendo uma variação de 2,16 a 3,29 $\text{pmol C}_2\text{H}_4 \text{ kg}^{-1} \text{ s}^{-1}$, pode-se observar que não houve interferência na taxa de produção de etileno de morangos ‘Albion’ com a aplicação do OEM (Tabela 4). A respiração é a degradação oxidativa de açúcares e ácidos orgânicos normalmente presentes em células vegetais, para moléculas mais simples, como CO_2 e H_2O e está atrelada ao processo de amadurecimento do fruto. Ainda, a taxa de produção de etileno é um dos fatores que estimulam a atividade respiratória e tem como revés a antecipação do amadurecimento e a senescência dos tecidos do fruto. Deve-se ressaltar que o morango é classificado como um fruto não climatérico, ou seja, após a colheita tende a um declínio na taxa respiratória e de produção de etileno. Levando em consideração o comportamento dos frutos ‘San Andreas’, observou-se que aqueles onde não houve aplicação do OEM produziram mais CO_2 e C_2H_4 , o que se leva a conclusão de que estes frutos estavam em um processo de senescência mais avançado em comparação aos frutos que levaram o tratamento com OEM. No entanto, para os frutos da cultivar Albion houve o efeito contrário: os frutos que foram tratados com 200 μL^{-1} de OEM obtiveram maior taxa respiratória, ou seja, estavam com a maturação mais avançada que os frutos que não receberam o tratamento ou receberam apenas 50 μL^{-1} de OEM. Mohammadi *et al.* (2020) encontraram resultados semelhantes aos encontrados nesta pesquisa ao aplicar óleo essencial de manjerição (*Ocimum basilicum* L.) juntamente com revestimento de gel de *Aloe vera* em morangos, onde observaram que a aplicação deste tratamento manteve a taxa respiratória baixa em comparação aos frutos não tratados, após doze dias de armazenamento a 4 °C. Os resultados de Mohammadi, Hashemi e Hosseini (2016) também corroboram com os encontrados para a cultivar ‘San Andreas’, onde houve menor taxa respiratória nos pepinos que foram tratados com óleo essencial de *Zataria multiflora* Boiss.

A dose de 600 $\mu\text{L L}^{-1}$ de OEM proporcionou morangos ‘San Andreas’ com maior teor de SS quando comparada as outras doses testadas (Tabela 3). Já a AT reduziu com o incremento na dose de OEM. Nos morangos da cultivar ‘Albion’, o teor de SS e a AT não apresentaram diferenças entre os tratamentos (Tabela 4). O alto teor de SS e a baixa AT nos morangos ‘San Andreas’ caracterizam a maturação dos frutos, tendo em vista que os ácidos orgânicos são utilizados como substrato no processo respiratório podendo ser convertidos em açúcares. Tabaestani *et al.* (2013) obtiveram resultados semelhantes ao aplicar óleo essencial de cominho (*C. cyminum*) em tomates, onde constataram aumento do teor de SS e redução da AT após nove dias do tratamento. Por outro lado, Barreto *et al.* (2016) verificaram que a aplicação de óleo essencial de *Origanum vulgare* L. em tomates cereja aumentou o teor de SS e a AT, após 12 dias em condições ambiente (25°C).

A força para penetração da polpa reduziu linearmente com o aumento da dose de OEM aplicado nos frutos da cultivar San Andreas (Tabela 3). Já para a cultivar Albion, a aplicação do OEM não alterou a força para penetração da polpa (Tabela 4). A redução da firmeza dos frutos também evidencia que a aplicação do OEM acelerou o amadurecimento destes, considerando que esta redução está relacionada com a perda de integridade da parede celular. No entanto, Sun *et al.* (2014) observaram que aplicação de carvacrol manteve a firmeza de mirtilos após sete dias de aplicação. Por outro lado, Vieira *et al.* (2018) ao aplicar diferentes óleos essenciais em maçãs ‘Fuji’ não constataram variação na firmeza dos frutos, bem como Asghari *et al.* (2009) verificaram que não houve alteração de firmeza em morangos ‘Selva’ quando aplicado óleo essencial de cominho (*C. cyminum*). Estes trabalhos evidenciam que os resultados podem ser extremamente influenciados pelo fruto e cultivar, óleo essencial e dose, tendo em vista que no presente estudo houve redução da firmeza na cultivar San Andreas, mas não na cultivar Albion.

Tabela 3 - Taxas respiratória ($\eta\text{mol de CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ s}^{-1}$) e de produção de etileno ($\text{pmol C}_2\text{H}_4 \text{ kg}^{-1} \text{ s}^{-1}$), sólidos solúveis (SS; °Brix), acidez titulável (AT; % de ácido cítrico) e força para penetração da polpa (N) em morangos ‘San Andreas’ submetidos as doses de 0, 100, 300 e 600 $\mu\text{L L}^{-1}$ de óleo essencial de melaleuca (*Melaleuca alternifolia*), e mantidos por 36 h em condições ambiente ($23\pm 2 \text{ }^\circ\text{C/UR de } 60\pm 5\%$).

Tratamentos	Taxa respiratória	Taxa de produção de etileno	SS	AT	Força para penetração da polpa
0 $\mu\text{L L}^{-1}$	1305,7	38,9	7,10	1,43	1,23
100 $\mu\text{L L}^{-1}$	1128,5	23,3	6,95	1,34	1,25
300 $\mu\text{L L}^{-1}$	867,4	9,80	6,68	1,21	1,07
600 $\mu\text{L L}^{-1}$	402,6	5,80	7,35	1,35	0,83
Linear	*	*	ns	*	**
Quadrática	ns	ns	**	ns	ns
C.V. (%)	25,8	57,6	7,10	1,43	1,23

Nota: Dados submetidos a análise de contrastes ortogonais polinomiais. ns: não significativo. *significativo a 0,1% e **a 1% de probabilidade de erro.

Fonte: Elaborada pela autora, 2020.

Tabela 4 – Taxas respiratória ($\eta\text{mol de CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ s}^{-1}$) e de produção de etileno ($\text{pmol C}_2\text{H}_4 \text{ kg}^{-1} \text{ s}^{-1}$), sólidos solúveis (°Brix), acidez titulável (% de ácido cítrico), força para penetração da polpa (N) em morangos ‘Albion’ submetidos as doses de 0, 50 e 200 $\mu\text{L L}^{-1}$ de óleo essencial de melaleuca (*Melaleuca alternifolia*), e mantidos por 36 h em condições ambiente ($23\pm 2 \text{ }^\circ\text{C/UR de } 60\pm 5\%$).

Tratamentos	Taxa respiratória	Taxa de produção de etileno	SS	AT	Força para penetração da polpa
0 $\mu\text{L L}^{-1}$	414,7 B	2,16 ns	8,33 ns	1,24 ns	1,73 ns
50 $\mu\text{L L}^{-1}$	432,7 B	3,29	8,38	1,17	1,75
200 $\mu\text{L L}^{-1}$	522,2 A	2,21	8,25	1,17	1,54
C.V. (%)	7,69	46,8	3,74	3,55	6,64

Nota: Médias seguidas por letras iguais na coluna, para cada método de tratamento, não diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Fonte: Elaborada pela autora, 2020.

Quanto aos atributos de qualidade dos frutos da cultivar San Andreas, a cor da epiderme em termos de L^* não apresentou diferença entre as doses aplicadas de OEM (Tabela 5). O C apresentou um decréscimo e o h° aumentou com o incremento da dose do OEM. Em relação aos atributos de cor dos frutos da cultivar Albion, os morangos onde foram aplicados o OEM apresentaram a cor da epiderme em termos de L^* , C e h° maior, quando comparado ao controle (Tabela 6).

Como pode ser observado, a aplicação de óleo essencial alterou as características de cor dos frutos (ANEXO C e E). Segundo o sistema CIELAB, os valores de h° mais próximos a 0° correspondem a cor vermelha e mais próximos a 90° correspondem a cor amarela. Desta forma, a aplicação de OEM, independente da cultivar e da dose, proporcionou frutos menos vermelhos. Outros autores obtiveram resultados contrastantes com os encontrados no presente estudo. Asghari *et al.* (2009) observaram que a aplicação do óleo essencial de cominho (*C. cyminum*) manteve as características de cor dos morangos ‘Selva’. Dehestani-Ardakani e Mostofi (2019), ao aplicarem óleo essencial *Thymus* em uvas ‘Shahroudi’, também constataram que o mesmo manteve a cor dos frutos.

O teor de CFT reduziu linearmente em morangos ‘San Andreas’, conforme a dose do OEM aumentou (Tabela 5). Para a cultivar ‘Albion’, o comportamento foi similar, onde o teor de CFT reduziu à medida que a dose do OEM aumentou (Tabela 6). A literatura mostra resultados contrastantes aos encontrados. Cindi *et al.* (2016) constataram o aumento do teor de CFT ao aplicarem vapor de óleo essencial de tomilho e canela em duas cultivares de pêssegos. Sellamuthu *et al.* (2013), ao aplicarem vapor de óleo essencial de tomilho em abacates também constataram um acréscimo no teor de CFT, em relação aos frutos onde não houve tratamento. Segundo Aaby e Remberg (2015), o teor de CFT em morangos diminui durante o amadurecimento do fruto. Desta forma, a redução no teor de CFT encontrado nesta pesquisa mostra que a aplicação de OEM não retardou o amadurecimento dos frutos. Além disso, o aumento no teor de CFT nos morangos pode ser atribuído ao acúmulo de antocianinas e, conseqüentemente, ao desenvolvimento da coloração mais avermelhada dos frutos (DHITAL *et al.*, 2018), o que não ocorreu neste trabalho, de acordo com os dados de cor de epiderme apresentados (Tabela 5 e 6), evidenciando que OEM pode ter inibido o metabolismo secundário.

A atividade da enzima POD, em morangos ‘San Andreas’ e ‘Albion’, foi maior onde não houve aplicação do OEM e reduziu com o incremento da dose de óleo (Tabela 5 e 6). A POD está diretamente envolvida na indução de mecanismos de defesa do fruto, pois cria uma barreira física de lignina ou suberina em resposta a interação de patógenos, ferimentos e restrições ambientais (PASSARDI; PENEL; DUNAND, 2004). Desta forma, considerando os dados obtidos com a atividade da POD e de compostos fenólicos, a aplicação do OEM não induziu o mecanismo de defesa dos morangos em ambas cultivares. No entanto, SHAO *et al.* (2013), ao aplicar 0.9 g L^{-1} de OEM em morangos ‘Hongyan’, verificaram maior atividade da POD, em comparação aos frutos não tratados com óleo essencial.

Tabela 5 – Cor da epiderme [lightness (L*), croma (C) e ângulo hue (h°)], teor de compostos fenólicos totais (CFT; mg EAG 100 g⁻¹) e atividade da enzima peroxidase (POD; DO mg⁻¹ de proteína min⁻¹) em morangos ‘San Andreas’ submetidos as doses de 0, 100, 300 e 600 µL L⁻¹ de óleo essencial de melaleuca (*Melaleuca alternifolia*), e mantidos por 36 h em condições ambiente (23±2 °C/UR de 60±5%).

Tratamentos	L*	C	h°	CFT	POD
0 µ L ⁻¹	34,2	39,4	35,7	135,4	2,93
100 µ L ⁻¹	36,2	42,4	37,4	158,6	1,46
300 µ L ⁻¹	36,5	34,4	38,4	122,6	1,04
600 µ L ⁻¹	36,5	31,2	40,8	106,6	0,06
<i>Linear</i>	<i>ns</i>	*	*	*	*
<i>Quadrática</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>
C.V. (%)	34,2	39,4	35,7	6,85	63,0

Nota: Dados submetidos a análise de contrastes ortogonais polinomiais. ns: não significativo. *significativo a 0,1% de probabilidade de erro.

Fonte: Elaborada pela autora, 2020.

Tabela 6 – Cor da epiderme [lightness (L*), croma (C) e ângulo hue (h°)], teor de compostos fenólicos totais (CFT; mg EAG 100 g⁻¹) e atividade da enzima peroxidase (POD; DO mg⁻¹ de proteínas minuto⁻¹) em morangos ‘Albion’ submetidos as doses de 0, 50 e 200 µL L⁻¹ de óleo essencial de melaleuca (*Melaleuca alternifolia*), e mantidos por 36 h em condições ambiente (23±2 °C/UR de 60±5%).

Tratamentos	L*	C	h°	CFT	POD
0 µ L ⁻¹	37,03 C	41,4 B	35,1 B	131,9 A	0,851 ns
50 µ L ⁻¹	38,06 B	42,1 AB	36,6 A	112,7 B	0,866
200 µ L ⁻¹	38,96 A	43,2 A	37,3 A	97,6 C	0,581
C.V. (%)	1,47	2,03	1,71	2,79	26,6

Nota: Médias seguidas por letras iguais na coluna, para cada método de tratamento, não diferem pelo teste de Tukey (p<0,05).

Fonte: Elaborada pela autora, 2020.

Os dados de perfil de compostos voláteis identificados em morangos ‘San Andreas’ e ‘Albion’ mostram que independente da dose, a aplicação de OEM suprimiu alguns compostos voláteis característicos do fruto (Tabela 7 e 8).

A aplicação do OEM reduziu ou suprimiu a produção de grande parte dos ésteres (Tabela 7 e 8). Ainda, o butanoato de etila e o hexanoato de metila foram os ésteres com maior área relativa encontrado nos frutos controle. Dentre os ésteres detectados nos frutos do controle, o acetato de etila é um dos principais componentes dos voláteis do morango (DONG *et al.*,

2013). Os ésteres promovem aromas característicos frutados e florais nos frutos (OZ *et al.*, 2016; YAN *et al.*, 2018), desta forma, diante dos resultados apresentados, pode-se observar que a aplicação do OEM omite o aroma característico do morango.

Tabela 7 - Perfil de compostos voláteis identificados em morangos ‘San Andreas’ submetidos as doses de 0, 100, 300 e 600 $\mu\text{L L}^{-1}$ de óleo essencial de melaleuca (*Melaleuca alternifolia*), e mantidos por 36h em condições ambiente (23 ± 2 °C/UR de $60\pm 5\%$).

Nº	Composto	Área (%)				Descritor de aroma ^a
		Controle	100 $\mu\text{L L}^{-1}$	300 $\mu\text{L L}^{-1}$	600 $\mu\text{L L}^{-1}$	
Ésteres						
1	(E3)-Hexenil acetato	0,37 ± 0,37	ND	ND	ND	Frutado
2	(Z2) Hexen-1-ol acetato	5,63 ± 4,48	3,58 ± 2,33	ND	ND	-
3	2-Metilbutil acetato	5,11 ± 2,23	ND	ND	ND	Maçã, banana, pêra
4	Acetato de 2-etilhexilo	0,15 ± 0,15	ND	ND	ND	-
5	Acetato de etila	11,44 ± 14,71	1,96 ± 2,14	14,42 ± 7,02	5,37 ± 2,28	Aromático, conhaque, uva
6	Acetato de hexila	3,37 ± 0,48	1,76 ± 2,15	ND	ND	Maçã, banana, grama, erva, pêra
7	Acetato de isobutila	3,87 ± 2,13	ND	ND	ND	Maçã, banana, floral, erva
8	Acetato de isopentilo	1,89 ± 0,40	ND	ND	ND	Maçã, banana, cola, pêra
9	Acetato de isopropil	0,65 ± 0,31	ND	ND	ND	Banana
10	Acetato de metila	7,76 ± 1,25	2,53 ± 3,00	ND	ND	Éster, verde
11	Acetato de tiglyl	0,68 ± 0,41	ND	ND	ND	-
12	Butanoato de etila	4,72 ± 2,29	ND	ND	ND	Maçã, manteiga, queijo, abacaxi, morango
13	Butanoato de metila	13,52 ± 5,95	2,75 ± 1,64	ND	ND	Maçã, banana, queijo, éster, floral
14	Butirato de isopropila	0,60 ± 0,53	ND	ND	ND	Fruta, pungente
15	Etanoato de butila	1,35 ± 1,27	ND	ND	ND	Maçã, banana, cola, picante

Tabela 7 - Perfil de compostos voláteis identificados em morangos ‘San Andreas’ submetidos as doses de 0, 100, 300 e 600 $\mu\text{L L}^{-1}$ de óleo essencial de melaleuca (*Melaleuca alternifolia*), e mantidos por 36h em condições ambiente (23 ± 2 °C/UR de $60\pm 5\%$).

Nº	Composto	Área (%)				Descritor de aroma ^a
		Controle	100 $\mu\text{L L}^{-1}$	300 $\mu\text{L L}^{-1}$	600 $\mu\text{L L}^{-1}$	
16	Hexanoato de etila	1,79 \pm 1,96	ND	ND	ND	Casca de maçã, conhaque, goma de fruta, fruta madura demais, abacaxi
17	Hexanoato de metila	11,41 \pm 2,20	ND	ND	ND	Éster, fresco, fruta, abacaxi
Alcoois						
18	(E2)-Hexen-1-ol	3,68 \pm 1,24	ND	ND	ND	Queijo azul, vegetal
19	1-Hexanol	6,29 \pm 5,75	ND	ND	ND	Banana, flor, grama, erva
20	2-Etil Hexanol	5,49 \pm 2,99	ND	ND	ND	Rosa, verde
21	Etanol	ND	ND	2,59 \pm 1,37	2,40 \pm 1,78	Alcoólico, doce, etéreo, forte
Aldeídos						
22	(E)-2-Hexenal	0,46 \pm 0,12	ND	ND	ND	Folha verde
23	Decanal	0,12 \pm 0,14	ND	ND	ND	Floral, Frito, Casca de Laranja, Penetrante, Sebo
24	Fenchone	ND	ND	0,40 \pm 0,47	1,71 \pm 0,25	Cânfora, ervas, amadeirado, terra
Ácidos						
25	Ácido butanoico	0,77 \pm 0,32	ND	ND	ND	Maçã, frutado, abacaxi
Terpenos						
26	α -Phellandrene	ND	ND	ND	1,63 \pm 0,30	Citrus, fresco, hortelã, pimenta, especiarias, madeira
27	4-Terpinenil acetato	ND	ND	ND	1,62 \pm 0,20	-
28	Eucaliptol	ND	7,20 \pm 5,37	18,71 \pm 8,48	19,43 \pm 2,33	Cânfora, fria, eucaliptol, menta

Tabela 7 - Perfil de compostos voláteis identificados em morangos ‘San Andreas’ submetidos as doses de 0, 100, 300 e 600 $\mu\text{L L}^{-1}$ de óleo essencial de melaleuca (*Melaleuca alternifolia*), e mantidos por 36h em condições ambiente (23 ± 2 °C/UR de $60\pm 5\%$).

Nº	Composto	Área (%)				Descritor de aroma ^a
		Controle	100 $\mu\text{L L}^{-1}$	300 $\mu\text{L L}^{-1}$	600 $\mu\text{L L}^{-1}$	
29	Linalol	8,09 \pm 4,43	3,47 \pm 1,77	0,82 \pm 0,41	1,07 \pm 0,21	Coentro, floral, lavanda, limão, rosa
30	m-Cimeno	ND	2,99 \pm 2,60	11,61 \pm 5,95	23,12 \pm 4,11	Solvente, gasolina, limão
31	Terpinen-4-ol	ND	52,40 \pm 30,01	31,92 \pm 31,18	15,24 \pm 12,29	Terra, mofo, noz-moscada, madeira
32	Terpineno	ND	1,47 \pm 1,30	5,65 \pm 3,26	12,36 \pm 2,88	Amargo, cítrico
33	Terpineol	ND	19,89 \pm 11,30	12,49 \pm 5,28	16,06 \pm 4,57	Anis, fresco, menta, óleo

ND: não detectado

^aNational Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/>. Acesso: Ago., 2020.

Fonte: Elaborada pela autora, 2020.

Os álcoois produzidos pelos frutos não foram identificados naqueles tratados, sendo que apenas o etanol foi encontrado nos frutos ‘San Andreas’ onde foram aplicados 300 e 600 $\mu\text{L L}^{-1}$ do OEM (Tabela 7). Anami *et al.* (2020) constataram que frutos em processo de maturação avançado continuam maior concentração de etanol, sendo um indicativo do metabolismo fermentativo. O etanol é um dos compostos responsáveis pelo *off flavor* (YAN *et al.*, 2018), e neste caso, provavelmente está relacionado com o avanço no processo de maturação dos frutos.

O aldeído (E)-2-Hexenal foi detectado em maior quantidade nos frutos ‘Albion’ onde não houve aplicação de OEM (Tabela 8). Já o composto volátil fenchone foi detectado nos frutos ‘San Andreas’ onde foram aplicados 300 e 600 $\mu\text{L L}^{-1}$ do OEM (Tabela 7) e nos frutos ‘Albion’ onde foram aplicados 50 e 200 $\mu\text{L L}^{-1}$ do OEM (Tabela 8).

Dentre os terpenos, o linalol foi encontrado em todos os frutos, independente da cultivar e da dose, no entanto, conforme a dose o OEM aumentou a porcentagem da área do linalol diminuiu (Tabela 7 e 8). Terpenos como o linalol, nerolidol e geraniol são importantes na composição do aroma de morango (OZ *et al.*, 2016), sendo que o linalol está entre os compostos mais importantes para o sabor e aroma do morango, conferindo uma essência floral frutada ao mesmo (AZODANLOU *et al.*, 2003).

Nos morangos tratados com OEM, os terpenos encontrados em maiores quantidade foram terpinen-4-ol, terpineol, eucaliptol e m-cimeno (Tabela 7 e 8). O terpinen-4-ol é um álcool monoterpene encontrado em diversas plantas, e é o composto majoritário do OEM (WEI *et al.*, 2020; YANG *et al.*, 2013). Sendo assim, de acordo com os resultados encontrados no presente trabalho, os voláteis presentes no OEM estão em maior quantidade do que aqueles aromas característicos dos morangos. Desta forma, conclui-se que o perfil de voláteis se altera fortemente conforme aumenta-se a dose do OEM.

Tabela 8 – Perfil de compostos voláteis identificados em morangos ‘Albion’ submetidos as doses de 0, 50 e 200 $\mu\text{L L}^{-1}$ de óleo essencial de melaleuca (*Melaleuca alternifolia*), e mantidos por 36 h em condições ambiente ($23\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C/UR}$ de $60\pm 5\%$).

Nº	Composto	Área (%)			Descritor de aroma ^a
		Controle	50 $\mu\text{L L}^{-1}$	200 $\mu\text{L L}^{-1}$	
Ésteres					
1	2-Metilbutil acetato	0,15 \pm 0,20	ND	ND	Maçã, banana, pêra
2	(Z2) Hexen-1-ol acetato	5,41 \pm 3,01	3,18 \pm 1,23	2,62 \pm 2,05	-
3	Acetato de etila	36,54 \pm 13,80	29,29 \pm 26,91	22,91 \pm 16,53	Aromático, conhaque, uva
4	Acetato de hexila	2,45 \pm 1,46	1,60 \pm 0,57	1,54 \pm 1,65	Maçã, banana, grama, erva, pêra
5	Acetato de isobutila	0,14 \pm 0,19	ND	ND	Maçã, banana, floral, erva
6	Acetato de metila	0,88 \pm 0,31	ND	ND	Éster, verde
7	Acetato de mirtenilo	ND	0,76 \pm 0,21	0,45 \pm 0,42	Floral
8	Acetato de octila	0,64 \pm 0,33	0,86 \pm 0,45	0,35 \pm 0,26	Ervas, verde, cogumelo, terroso, ceroso
9	Benzoato de etila	0,13 \pm 0,15	ND	ND	Camomila, aipo, gordura, flor, fruta
10	Butanoato de etila	14,34 \pm 3,06	7,55 \pm 1,85	8,67 \pm 2,48	Maçã, manteiga, queijo, abacaxi, morango
11	Butanoato de metila	0,26 \pm 0,16	ND	ND	Maçã, banana, queijo, éster, floral
12	Hexanoato de etila	12,06 \pm 2,18	10,36 \pm 2,70	3,79 \pm 1,53	Casca de maçã, conhaque, goma de fruta, fruta madura demais, abacaxi
13	Hexanoato de metila	1,33 \pm 0,90	ND	ND	Éster, fresco, fruta, abacaxi
14	Tiglato de etila	0,38 \pm 0,24	ND	ND	Frutado
Alcoois					
15	1-Hexanol	0,74 \pm 0,57	ND	ND	Banana, flor, grama, erva
16	2-Etil Hexanol	4,27 \pm 1,39	1,20 \pm 1,23	ND	Rosa, verde

Tabela 8 – Perfil de compostos voláteis identificados em morangos ‘Albion’ submetidos as doses de 0, 50 e 200 $\mu\text{L L}^{-1}$ de óleo essencial de melaleuca (*Melaleuca alternifolia*), e mantidos por 36 h em condições ambiente (23 ± 2 °C/UR de $60\pm 5\%$).

Nº	Composto	Área (%)			Descritor de aroma ^a
		Controle	50 $\mu\text{L L}^{-1}$	200 $\mu\text{L L}^{-1}$	
Aldeídos					
17	(E)-2-Hexenal	9,78 \pm 8,24	2,35 \pm 0,86	1,69 \pm 0,99	Folha verde
18	Decanal	0,06 \pm 0,05	ND	ND	Floral, Frito, Casca de Laranja, Penetrante, Sebo
19	Fenchone	ND	0,68 \pm 0,49	1,43 \pm 0,93	Cânfora, ervas, amadeirado, terra
20	Nonanal	0,08 \pm 0,08	ND	ND	Gordura, floral, verde, limão
Ácidos					
21	Ácido acético	ND	0,55 \pm 0,63	ND	Ácido, fruta, picante, azedo, vinagre
22	Etil 2-Ácido β -hidroxi- β -metilbutírico	0,78 \pm 0,28	ND	ND	Maçã verde, kiwi, morango
Terpenos					
23	(E) Nerolidol	ND	0,25 \pm 0,18	ND	Abeto, linóleo, pinheiro
24	Eucaliptol	ND	7,92 \pm 1,72	13,15 \pm 3,52	Cânfora, fria, eucaliptol, menta
25	Isocineole	ND	0,33 \pm 0,10	0,74 \pm 0,51	Especiarias
26	Linalol	7,44 \pm 2,30	2,83 \pm 0,40	2,54 \pm 0,79	Coentro, floral, lavanda, limão, rosa
27	m-Cimeno	ND	2,63 \pm 0,87	4,06 \pm 2,78	Solvente, gasolina, limão
28	Piperitona	ND	1,29 \pm 0,49	2,44 \pm 1,23	Frutado, doce
29	Terpinen-4-ol	ND	18,54 \pm 15,24	22,18 \pm 19,16	Terra, mofo, noz-moscada, madeira
30	Terpineno	ND	1,42 \pm 0,42	3,32 \pm 1,70	Amargo, cítrico
31	Terpineol	ND	4,97 \pm 1,51	8,11 \pm 3,32	Anis, fresco, menta, óleo

ND: não detectado

^aNational Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/>. Acesso: Ago., 2020.

Fonte: Elaborada pela autora, 2020.

6 CONCLUSÕES

A aplicação do óleo essencial de melaleuca via fumigação em pós-colheita de frutos de morango reduz o desenvolvimento de podridão pós-colheita causada por *B. cinerea*, no entanto, causa alterações indesejadas nos atributos de qualidade dos frutos, como a força para a penetração da polpa e cor de epiderme. Ainda, o uso do óleo essencial de melaleuca altera o perfil de compostos voláteis, sendo que os voláteis presentes no óleo estão em maior quantidade que aqueles característicos do morango.

Estudos adicionais podem ser delineados com o objetivo de determinar qual o período e forma de aplicação mais eficiente, bem como identificar quais os componentes do óleo tem maior ação sob o fungo e a interferência desses nas propriedades organolépticas dos frutos.

REFERÊNCIAS

- AABY, K.; REMBERG, S. F. Strawberry Phenolics and Impact of Ripening. **Processing And Impact On Active Components In Food**, [S.L.], p. 157-164, 2015.
- AGRIOS, G. N. Plant diseases caused by fungi. In: _____. **Plant Pathology**. 5. ed. San Diego: Elsevier Academic Press, 2005. p.385-614.
- AGUILAR-GONZÁLEZ, A. E.; PALOU, E.; LÓPEZ-MALO, A. Antifungal activity of essential oils of clove (*Syzygium aromaticum*) and/or mustard (*Brassica nigra*) in vapor phase against gray mold (*Botrytis cinerea*) in strawberries. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, Amsterdam, v. 32, p.181-185, dez. 2015.
- ANAMI, J. M.; STEFFENS, C. A.; MOREIRA, M. A.; FERNANDES, R. C.; MOSQUERA, D. J. C.; AMARANTE, C. V. T. do. Active modified atmosphere storage to preserve the quality of 'San Andreas' strawberries harvest at two ripening stages. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Joboticabal, v. 42, n. 1, 2020.
- ANDRADE JÚNIOR, V. C.; GUIMARÃES, A. G.; AZEVEDO, A. M.; PINTO, N. A. V. D.; FERREIRA, M. A. M. Conservação pós-colheita de frutos de morangueiro em diferentes condições de armazenamento. **Horticultura Brasileira**, Recife, v. 34, n. 3, 2016.
- ANGELINI, P.; PAGIOTTI, R.; GRANETTI, B. Effect of antimicrobial activity of *Melaleuca alternifolia* essential oil on antagonistic potential of *Pleurotus* species against *Trichoderma harzianum* in dual culture. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, [S.L.], v. 24, n. 2, p. 197-202, 2008.
- ANTUNES, L. E. C.; BONOW, S.; REISSER JUNIOR, C. Morango: crescimento constante em área e produção. **Anuário Campo & Negócios HF-2020**. Uberlândia-MG, v. 37, p. 88-92, 2020.
- ANTUNES, L. E. C.; CARVALHO, G. L.; SANTOS, A. M. A cultura do morango. Brasília, DF: **Embrapa Informação Tecnológica**, 2. ed. 2011. 52p.
- ANTUNES, L. E. C.; FAGHERAZZI, A. F.; VIGNOLO, G. K. Morangos tem produção crescente. **Campo & Lavoura**, Anuário HF 2017, n. 1, p.96-102, 2017.
- ARREBOLA, E.; SIVAKUMAR, D.; BACIGALUPO, R.; KORSTEN, L. Combined application of antagonist *Bacillus amyloliquefaciens* and essential oils for the control of peach postharvest diseases. **Crop Protection**, Guildford, v. 29, n. 4, p.369-377, abr. 2010.
- ASGHARI, M. A.; MOSTOFI, Y.; SHOEIBI, SH.; FATTAHI, M. Effect of cumin essential oil on postharvest decay and some quality factors of strawberry. **Journal of Medicinal Plants**, Karaj, v. 8, n. 31, p.25-43, 2009.
- AZODANLOU, R.; DARBELLAY, C.; LUISIER, J.; VILLETZAZ, J.; AMADÒ, R. Quality Assessment of Strawberries (*Fragaria* Species). **Journal Of Agricultural And Food Chemistry**, [S.L.], v. 51, n. 3, p. 715-721, jan. 2003.

- BAN, Y.; OYAMA-OKUBO, N.; HONDA, C.; NAKAYAMA, M.; MORIGUCHI, T. Emitted and endogenous volatiles in 'Tsugaru' apple: The mechanism of ester and (E,E)- α -farnesene accumulation. **Food Chemistry**, London, v. 118, n. 2, p.272-277, jan. 2010.
- BARRETO, T. A.; ANDRADE, S. C. A.; MACIEL, J. F.; ARCANJO, N. M. O.; MADRUGA, M. S.; MEIRELES, B.; CORDEIRO, Â. M. T.; SOUZA, E. L.; MAGNANI, M. A Chitosan Coating Containing Essential Oil from *Origanum vulgare* L. to Control Postharvest Mold Infections and Keep the Quality of Cherry Tomato Fruit. **Frontiers In Microbiology**, Lausanne, v. 7, p. 1-14, 8 nov. 2016.
- BARRIOS, S.; LEMA, P.; LAREO, C. Modeling respiration rate of strawberry (cv. San Andreas) for modified atmosphere packaging design. **International Journal of Food Properties**, [S.L.], v. 17, n. 9, p. 2039-2051, 2014.
- BIZZO, H. R.; HOVELL, A. M. C.; REZENDE, C. M. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 3, p.588-594, abr. 2009.
- BOISHEBERT, V. de; GIRAUDEL, J.; MONTURY, M. Characterization of strawberry varieties by SPME-GC-MS and Kohonen self-organizing map. **Chemometrics And Intelligent Laboratory Systems**, [S.L.], v. 80, n. 1, p. 13-23, jan. 2006.
- BORGES, C. D.; MENDONÇA, C. R. B.; ZAMBIAZI, R. C.; DA SILVA, E. M. P.; PAIVA, F. F. Conservação de morangos com revestimentos à base de goma xantana e óleo essencial de sálvia. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 29, n. 5, 2013.
- CALDEFIE-CHÉZET, F.; FUSILLIER, C.; JARDE, T.; LAROYE, H.; DAMEZ, M.; VASSON, M. P.; GUILLOT, J. Potential anti-inflammatory effects of *Melaleuca alternifolia* essential oil on human peripheral blood leukocytes. **Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives**, New York, v. 20, n. 5, p. 364-370, 2006.
- CAMPOS, T.; BARRETO, S.; QUEIRÓS, R.; RICARDO-RODRIGUES, S.; FÉLIX, M. do R.; LARANJO, M.; RATO, A. E.; AGULHEIRO-SANTOS, A. C. Conservação de morangos com utilização de óleos essenciais. **AGROTEC**, v. 18, p. 90-6, mar. 2016.
- CANTILLANO, R. F. F. Manuseio pós-colheita. In: ANTUNES, L. E. C.; JUNIOR, C. R.; SCHWENGBER, J. E. (Ed.). **Morangueiro**. Brasília: Embrapa, 2016. Cap. 17. p. 413-480.
- CANTILLANO, R. F. F. Fisiologia e manejo na colheita e pós-colheita de morangos. In: II SIMPÓSIO NACIONAL DO MORANGO E I ENCONTRO DE PEQUENAS FRUTAS E FRUTAS NATIVAS DO MERCOSUL, 2004, Pelotas. **Anais...** Pelotas: Embrapa Clima Temperado, p. 146-161, jun. 2004.
- CANTILLANO, R. F. F.; SILVA, M. M. da. Manuseio Pós-colheita de Morangos. Pelotas: **Embrapa Clima Temperado**, 1 ed. 2010. 36p.
- CARSON, C. F.; HAMMER, K. A.; RILEY, T. V. *Melaleuca alternifolia* (Tea Tree) Oil: a review of antimicrobial and other medicinal properties. **Clinical Microbiology Reviews**, Washington, v. 19, n. 1, p.50-62, jan. 2006.

CARSON, C. F.; RILEY, T. V. Antimicrobial activity of the major components of the essential oil of *Melaleuca alternifolia*. **Journal Of Applied Bacteriology**, Oxford, v. 78, n. 3, p.264-269, mar. 1995.

CHENG, S.; SHAO, X. *In vivo* antifungal activities of the tea tree oil vapor against *Botrytis cinerea*. **2011 International Conference On New Technology Of Agricultural**, [S.L.], p. 949-951, maio 2011.

CINDI, M. D.; SOUNDY, P.; ROMANAZZI, G.; SIVAKUMAR, D. Different defense responses and brown rot control in two *Prunus persica* cultivars to essential oil vapours after storage. **Postharvest Biology And Technology**, Amsterdam, v. 119, p. 9-17, set. 2016.

COX, S. D.; MANN, C. M.; MARKHAM, J. L.; BELL, H. C.; GUSTAFSON, J. E.; WARMINGTON, J. R.; WYLLIE, S. G. The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). **Journal of applied microbiology**, [S.L.], v. 88, n. 1, p. 170-175, 2000.

DEHESTANI-ARDAKANI, M.; MOSTOFI, Y. Postharvest application of chitosan and *Thymus* essential oil increase quality of the table grape cv. 'Shahroudi'. **Journal Of Horticulture And Postharvest Research**, [S.L.], v. 2, n. 1, p. 31-42, mar. 2019.

DHITAL, R.; MORA, N. B.; WATSON, D. G.; KOHLI, P.; CHOUDHARY, R. Efficacy of limonene nano coatings on post-harvest shelf life of strawberries. **Lwt**, [S.L.], v. 97, p. 124-134, nov. 2018.

DONG, D.; ZHAO, C.; ZHENG, W.; WANG, W.; ZHAO, X.; JIAO, L. Analyzing Strawberry Spoilage via its Volatile Compounds Using Longpath Fourier Transform Infrared Spectroscopy. **Scientific Reports**, [S.L.], v. 3, n. 1, p. 1-7, 4 set. 2013.

DROBY, S.; LICHTER, A. Post-harvest botrytis infection: etiology, development and management. In: ELAD, Y. et al (Ed.). **Botrytis: Biology, Pathology and Control**. Bet Dagan: Springer, 2007. Cap. 19. p.349-367.

EL OUADI, Y.; MANSSOURI, M.; BOUYANZER, A.; MAJIDI, L.; BENDAIF, H.; ELMSELLEM, H.; SHARIATI, M. A.; MELHAOUI, A.; HAMMOUTI, B. Essential oil composition and antifungal activity of *Melissa officinalis* originating from north-Est Morocco, against postharvest phytopathogenic fungi in apples. **Microbial Pathogenesis**, [S.L.], v. 107, p. 321-326, jun. 2017.

ELSHAFIE, H. S.; MANCINI, E.; CAMELE, I.; DE MARTINO, L.; DE FEO, V. *In vivo* antifungal activity of two essential oils from Mediterranean plants against postharvest brown rot disease of peach fruit. **Industrial Crops and Products**, [S.L.], v.66, p.11-15, 2015.

FAGHERAZZI, A. F. **Avaliação de cultivares de morangueiro no planalto sul catarinense**. 2013. 108f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) –Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, 2013.

FAO. **Food And Agriculture Organization Of The United Nations**: Statistics Division. 2020. Disponível em: <<http://faostat3.fao.org/home/E>>. Acesso em: 30 mar. 2020.

- FIGUEIREDO, A. C.; BARROSO, J. G.; PEDRO, L. G.; SCHEFFER, J. J. Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils: volatile components and essential oils. **Flavour And Fragrance Journal**, [S.L.], v.23, n.4, p.213-226, jul. 2008.
- FLORES, F. C.; DE LIMA, J. A.; RIBEIRO, R. F.; ALVES, S. H.; ROLIM, C. M. B.; BECK, R. C. R.; DA SILVA, C. B. Antifungal activity of nanocapsule suspensions containing tea tree oil on the growth of *Trichophyton rubrum*. **Mycopathologia**, [S.L.], v. 175, n. 3-4, p. 281-286, 2013.
- FONSECA, S. C; OLIVEIRA, F. A. R.; BRECHT, J. K. Modelling respiration rate of fresh fruits and vegetables for modified atmosphere packages: a review. **Journal Of Food Engineering**, [S.L.], v. 52, n. 2, p. 99-119, abr. 2002.
- GAY, C.; COLLINS, J.; GEBICKI, J. M. Hydroperoxide assay with the ferric-xylenol orange complex. **Analytical Biochemistry**, San Diego, v.273, p.149–155, 1999.
- GUZZO, S. D.; MARTINS, E. M. F. Local and systemic induction of β -1,3-glucanase and chitinase in coffee leaves protected against *Hemileia vastatrix* by *Bacillus thuringiensis*. **Journal Of Phytopathology**, Berlin, v.144, p.449-454, nov. 1996.
- HAMMERSCHMIDT, R.; NUCKLES, E. M.; KUĆ, J. Association of enhanced peroxidase activity with induced systemic resistance of cucumber to *Colletotrichum lagenarium*. **Physiological Plant Pathology**, [S.L.], v. 20, n. 1, p. 73-82, jan. 1982.
- HEREDIA, A. G.; DÁVILA-AVIÑA, J. E.; ZOELLNER, C.; GARCIA-AMEZQUITA, L. E.; HEREDIA, N. Essential Oils and Plant Extracts as Natural Antimicrobial Agents. In: **Emerging Postharvest Treatment of Fruits and Vegetables**. Apple Academic Press, 2018. p. 345-380.
- HERMES-LIMA, M.; WILLMORE, W. G.; STOREY, K. B. Quantification of lipid peroxidation in tissue extracts based on Fe(III) xylenol orange complex formation. **Free Radicals in Biology and Medicine**, San Diego, v.19, p.271–280, 1995.
- JALALI, A.; LINKE, M.; GEYER, M.; MAHAJAN, P. V. Shelf life prediction model for strawberry based on respiration and transpiration processes. **Food Packaging And Shelf Life**, [S.L.], v. 25, p. 100525, set. 2020.
- KOCHBA, J.; LAVEE, S.; SPIEGEL-ROY, P. Differences in peroxidase activity and isoenzymes in embryogenic and non-embryogenic ‘Shamouti’ orange ovular callus lines. **Plant And Cell Physiology**, Kyoto, v. 18, n. 2, p.463-467, abr. 1977.
- KONG, Q.; QI, J.; AN, P.; DENG, R.; MENG, J.; REN, X. *Melaleuca alternifolia* oil can delay nutrient damage of grapes caused by *Aspergillus ochraceus* through regulation of key genes and metabolites in metabolic pathways. **Postharvest Biology And Technology**, Amsterdam, v. 164, p. 111-152, jun. 2020.
- LI, Y.; SHAO, X.; XU, J.; WEI, Y.; XU, F.; WANG, H. Effects and possible mechanism of tea tree oil against *Botrytis cinerea* and *Penicillium expansum* *in vitro* and *in vivo* test. **Canadian Journal Of Microbiology**, [S.L.], v. 63, n. 3, p. 219-227, mar. 2017.

MAAS, J. L. Strawberry disease management. In: NAQVI, S. A. M. H. (Ed.). **Diseases of fruits and vegetables: diagnosis and management**. Nagpur: Kluwer Academic Publishers, 2004. Cap. 12. p.441-483.

MANDAL, S.; DEBMANDAL, M. Thyme (*Thymus vulgaris* L.) Oils. In: PREEDY, V. R. (Ed.) **Essential Oils In Food Preservation, Flavor And Safety**. Amsterdam: Elsevier, 2016. Cap. 94. p.825-834.

MAZARO, S. M.; GOUVEA, A.; JUNIOR, A. W.; CITADIN, I. Enzimas associadas à indução de resistência em morangueiro pelo uso de quitosana e acibenzolar-s-metil. **Revista Ciências Exatas e Naturais**, Guarapuava, v. 14, n.1, p. 91-99, jan./jun. 2012.

MOHAMMADI, A.; HASHEMI, M.; HOSSEINI, S. M. Postharvest treatment of nanochitosan-based coating loaded with *Zataria multiflora* essential oil improves antioxidant activity and extends shelf-life of cucumber. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, [S.L.], v. 33, p. 580-588, fev. 2016.

MOHAMMADI, L.; RAMEZANIAN, A.; TANAKA, F.; TANAKA, F. Impact of *Aloe vera* gel coating enriched with basil (*Ocimum basilicum* L.) essential oil on postharvest quality of strawberry fruit. **Journal Of Food Measurement And Characterization**, [S.L.], p. 1-10, 10 set. 2020.

MORAES, L. A. S. Óleos essenciais no controle fitossanitário. In: BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. (Ed.). **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas**. 1 ed. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2009. 341p.

NEVES, L. C. (Org.). **Manual Pós-Colheita da fruticultura brasileira**. Londrina: SciELO - EDUEL, 2018. 494 p.

NOUMI, E.; SNOUSSI, M.; HAJLAOUI, H.; TRABELSI, N.; KSOURI, R.; VALENTIN, E.; BAKHROUF, A. Chemical composition, antioxidant and antifungal potential of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) and *Eucalyptus globulus* essential oils against oral *Candida* species. **Journal of Medicinal Plants Research**, [S.L.], v. 5, n. 17, p. 4147-4156, 2011.

OSHITA, D.; JARDIM, I. C. S. F. Morango: uma preocupação alimentar, ambiental e sanitária, monitorado por cromatografia líquida moderna. **Scientia Chromatographica**, [S.L.], v.4, n.1, p.46-70, 2012.

OZ, A. T.; BAKTEMUR, G.; KARGI, S. P.; KAFKAS, E. Volatile Compounds of Strawberry Varieties. **Chemistry Of Natural Compounds**, [S.L.], v. 52, n. 3, p. 507-509, 29 abr. 2016.

PARVEZ, S.; WANI, I. A. Postharvest biology and technology of strawberry. In: MIR, S. A. et al. (Ed.). **Postharvest Biology and Technology of Temperate Fruits**. Srinagar: Springer, 2018. Cap. 14. p.331-348.

PETRASCH, S.; KNAPP, S. J.; VAN KAN, J. A.; BLANCO-ULATE, B. Grey mould of strawberry, a devastating disease caused by the ubiquitous necrotrophic fungal pathogen *Botrytis cinerea*. **Molecular plant pathology**, [S.L.], v. 20, n. 6, p. 877-892, 2019.

QIN, G.; TAO, S.; CAO, Y.; WU, J.; ZHANG, H.; HUANG, W.; & ZHANG, S. Evaluation of the volatile profile of 33 *Pyrus ussuriensis* cultivars by HS-SPME with GC-MS. **Food Chemistry**, London, v. 134, n. 4, p.2367-2382, out. 2012.

RGUEZ, S.; DJÉBALI, N.; SLIMENE, I. B.; ABID, G.; HAMMEMI, M.; CHENENAOU, S.; BACHKOUEL, S.; DAAMI-REMADI, M.; KSOURI, R.; HAMROUNI-SELLAMI, I. *Cupressus sempervirens* essential oils and their major compounds successfully control postharvest grey mould disease of tomato. **Industrial Crops And Products**, [S.L.], v.123, p.135-141, nov. 2018.

RICCIONI, L.; ORZALI, L. Activity of tea tree (*Melaleuca alternifolia*, Cheel) and thyme (*Thymus vulgaris*, Linnaeus.) essential oils against some pathogenic seed borne fungi. **Journal of essential oil research**, Carol Stream, v. 23, n. 6, p. 43-47, 2011.

ROCHA NETO, A. C. da; NAVARRO, B. B.; CANTON, L.; MARASCHIN, M.; PIERO, R. M. di. Antifungal activity of palmarosa (*Cymbopogon martinii*), tea tree (*Melaleuca alternifolia*) and star anise (*Illicium verum*) essential oils against *Penicillium expansum* and their mechanisms of action. **Lwt**, [S.L.], v. 105, p. 385-392, maio 2019.

ROESLER, R.; MALTA, L. G.; CARRASCO, L. C.; HOLANDA, R. B.; SOUSA, C. A. S.; PASTORE, G. M. Atividade antioxidante de frutas do cerrado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.27, n.1, p.53-60, 2007.

RODOV, V.; BEN-YEHOSHUA, S.; AHARONI, N.; & COHEN, S. 5 modified humidity packaging of fresh produce. **Horticultural Reviews**, [S.L.], v. 37, p. 281, 2010.

RUIZ-HERNÁNDEZ, V.; ROCA, M. J.; EGEEA-CORTINES, M.; WEISS, J. A comparison of semi-quantitative methods suitable for establishing volatile profiles. **Plant Methods**, [S.L.], v. 14, n. 1, p.1-15, 2018.

RUSSELL, M; SOUTHWELL, I. Monoterpenoid accumulation in *Melaleuca alternifolia* seedlings. **Phytochemistry**, Oxford, v. 59, n. 7, p.709-716, abr. 2002.

SAS INSTITUTE. **Getting started with the SAS learning edition**. Cary: SAS, 2002. 200p.

SALVATORI, C.; BARCHI, L.; GUZZO, F.; GARGARI, M. A comparative study of antibacterial and anti-inflammatory effects of mouthrinse containing tea tree oil. **ORAL & implantology**, [S.L.], v. 10, n. 1, p. 59, 2017.

SELLAMUTHU, P. S.; MAFUNE, M.; SIVAKUMAR, D.; SOUNDY, P. Thyme oil vapour and modified atmosphere packaging reduce anthracnose incidence and maintain fruit quality in avocado. **Journal Of The Science Of Food And Agriculture**, [S.L.], v. 93, n. 12, p. 3024-3031, 3 maio 2013.

SENA, C. C. R.; CAMILO, Y. M. V.; EVANGELISTA, Z. R.; ARAUJO, K. K. S.; SEMENSATO, L. R. Different packages in the post-harvest quality of strawberry (cv. Camarosa). **Journal of neotropical agriculture**, [S.L.], v. 6, n. 4, p. 8-13, 2019.

SHANER, G.; FINNEY, R. E. The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow-mildewing resistance in Knox wheat. **Phytopathology**, v. 67, n. 8, p. 1051-1056, 1977.

- SHAO, X.; WANG, H.; XU, F.; CHENG, S. Effects and possible mechanisms of tea tree oil vapor treatment on the main disease in postharvest strawberry fruit. **Postharvest Biology And Technology**, Amsterdam, v. 77, p.94-101, mar. 2013.
- SINGH, A.; DWIVEDI, P. Methyl-jasmonate and salicylic acid as potent elicitors for secondary metabolite production in medicinal plants: A review. **J. Pharmacogn. Phytochem**, [S.L.], v.7, n.1, p.750-757, 2018.
- SUN, X.; NARCISO, J.; WANG, Z.; FERENC, C.; BAI, J.; ZHOU, K. Effects of Chitosan-Essential Oil Coatings on Safety and Quality of Fresh Blueberries. **Journal Of Food Science**, [S.L.], v. 79, n. 5, p. 955-960, 15 abr. 2014.
- TABAESTANI, H. S. SEDAGHAT, N.; POOYA, E. S.; ALIPOUR, A. Shelf life improvement and postharvest quality of cherry tomato (*Solanum lycopersicum* L.) fruit using basil mucilage edible coating and cumin essential oil. **International Journal of Agronomy and Plant Production**, [S.L.], v. 4, n. 9, p. 2346-2353, 2013.
- TANO, K; KAMENAN, A.; ARUL, J. Respiration and transpiration characteristics of selected fresh fruits and vegetables. **Agronomie Africaine**, [S.L.], v. 17, n. 2, p. 103-115, 24 fev. 2009.
- TERZI, V.; MORCIA, C.; FACCIOLI, P.; VALE, G.; TACCONI, G.; MALNATI, M. *In vitro* antifungal activity of the tea tree (*Melaleuca alternifolia*) essential oil and its major components against plant pathogens. **Letters in applied microbiology**, [S.L.], v. 44, n. 6, p. 613-618, 2007.
- TIAN, J.; BAN, X.; ZENG, H.; HE, J.; HUANG, B.; WANG, Y. Chemical composition and antifungal activity of essential oil from *Cicuta virosa* L. var. *latisecta* Celak. **International Journal Of Food Microbiology**, [S.L.], v.145, n.2-3, p.464-470, 28 fev. 2011.
- TSAO, R.; ZHOU, T. Antifungal activity of monoterpenoids against postharvest pathogens *Botrytis cinerea* and *Monilinia fructicola*. **Journal Of Essential Oil Research**, Carol Stream, v. 12, n. 1, p.113-121, jan. 2000.
- UENO, B.; COSTA, H. Doenças causadas por fungos e bactérias. In: ANTUNES, L. E. C.; JUNIOR, C. R.; SCHWENGBER, J. E. (Ed.). **Morangueiro**. Brasília: Embrapa, 2016. Cap. 17. p. 413-480.
- UMESHA, S. Phenylalanine ammonia lyase activity in tomato seedlings and its relationship to bacterial canker disease resistance. **Phytoparasitica**, Bet Dagan, v.34, n.1, p. 68-71, fev. 2006.
- UNIVERSITY OF CALIFORNIA. Douglas V. Shaw; Kirk D. Larson. **Strawberry plant named 'San Andreas'**. US PP19,975 P2, 25 jan. 2008, 12 mai. 2009. Disponível em: <<https://knapp.plantsciences.ucdavis.edu/index.php/san-andreas/>>. Acesso em: 20 nov. 2018.
- UNIVERSITY OF CALIFORNIA. Douglas V. Shaw; Kirk D. Larson. **Strawberry plant named 'Albion'**. US PP16,228 P3, 29 jan. 2004, 31 jan. 2006. Disponível em: <<https://knapp.plantsciences.ucdavis.edu/index.php/albion/>>. Acesso em: 30 mar. 2020.

- VIEIRA, A. M. F. D.; STEFFENS, C. A.; ARGENTA, L. C.; AMARANTE, C. V. T. do; OSTER, A. H.; CASA, R. T.; AMARANTE, A. G. M.; ESPÍNDOLA, B. P. Essential oils for the postharvest control of blue mold and quality of 'Fuji' apples. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, [S.L.], v. 53, n. 5, p. 547-556, maio 2018.
- VIGNOLO G. K. et al. Origem e botânica. In: ANTUNES, L. E. C.; JUNIOR, C. R.; SCHWENGBER, J. E. (Ed.). **Morangueiro**. Brasília: Embrapa, 2016. Cap. 02. p. 35-46.
- VILAPLANA, R.; PAZMIÑO, L.; VALENCIA-CHAMORRO, S. Control of anthracnose, caused by *Colletotrichum musae*, on postharvest organic banana by thyme oil. **Postharvest Biology And Technology**, Amsterdam, v. 138, p.56-63, abr. 2018.
- VITTI, A. M. S.; BRITO, J. O. Óleo essencial de eucalipto. **Documentos florestais**, [S.L.], v. 17, p.1-26, ago. 2003.
- WEI, Y.; WEI, Y.; XU, F.; SHAO, X. The combined effects of tea tree oil and hot air treatment on the quality and sensory characteristics and decay of strawberry. **Postharvest Biology And Technology**, Amsterdam, v. 136, p. 139-144, fev. 2018.
- WEI, C.; MA, Z.; QIAO, J.; LIN, J.; LI, G. Effects of different drying methods on volatile composition of *Melaleuca alternifolia* essential oil. **Iop Conference Series: Earth and Environmental Science**, [S.L.], v. 559, p. 012-010, 4 set. 2020.
- WILLIAMSON, B.; TUDZYNSKI, B.; TUDZYNSKI, P.; VAN KAN, J. A. L. *Botrytis cinerea*: the cause of grey mould disease. **Molecular Plant Pathology**, [S.L.], v. 8, n. 5, p. 561-580, set. 2007.
- YADAV, E. KUMAR, S.; MAHANT, S.; KHATKAR, S.; RAO, R. Tea tree oil: a promising essential oil. **Journal of Essential oil research**, Carol Stream, v. 29, n. 3, p. 201-213, 2017.
- YAMASHITA, F.; VEIGA, G. F.; DE TOLEDO BENASSI, M.; ROBERTO, S. R. Morangos embalados com filme de Ppolicloreto de Vinila (PVC). **Semina: Ciências Agrárias**, [S.L.], v. 27, n. 3, p. 429-435, 2006.
- YAN, J. W.; BAN, Z. J.; LU, H. Y.; LI, D.; POVERENOV, E.; LUO, Z. S.; LI, L. The aroma volatile repertoire in strawberry fruit: a review. **Journal Of The Science Of Food And Agriculture**, [S.L.], v. 98, n. 12, p. 4395-4402, 20 mai. 2018.
- YANG, J.; CHO, K.; CHUNG, N.; KIM, C.; SUH, J.; LEE, H. Constituents of volatile compounds derived from *Melaleuca alternifolia* leaf oil and acaricidal toxicities against house dust mites. **Journal Of The Korean Society For Applied Biological Chemistry**, [S.L.], v. 56, n. 1, p. 91-94, fev. 2013.
- YU, D.; WANG, J.; SHAO, X.; XU, F.; WANG, H. Antifungal modes of action of tea tree oil and its two characteristic components against *Botrytis cinerea*. **Journal Of Applied Microbiology**, [S.L.], v. 119, n. 5, p. 1253-1262, 7 out. 2015.

ANEXO A – MINICÂMARAS PARA APLICAÇÃO DOS TRATAMENTOS

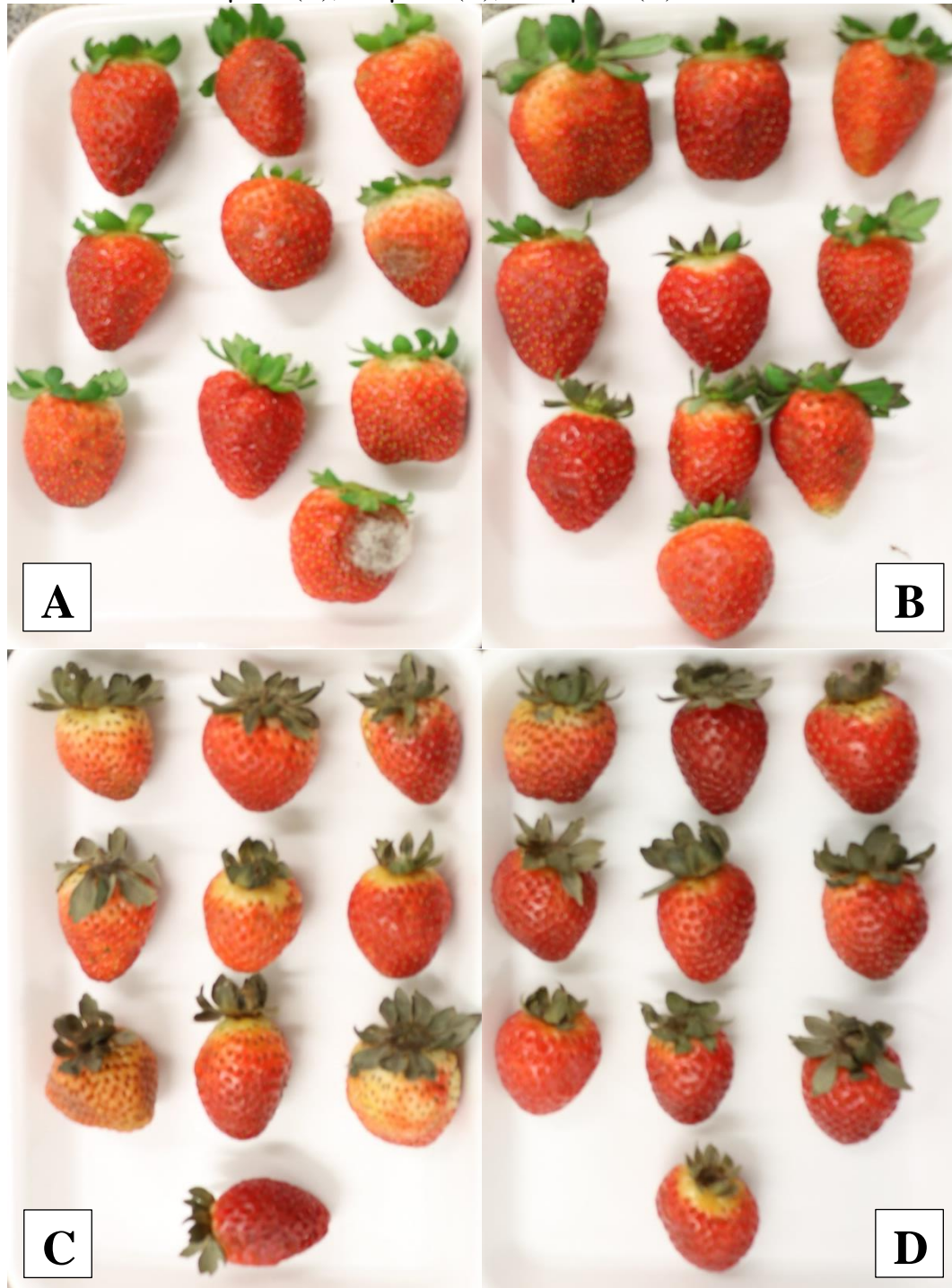
Figura 4 – Minicâmaras para aplicação dos tratamentos em morangos ‘San Andreas’ e ‘Albion’.



Fonte: Elaborada pela autora, 2020.

**ANEXO B – COMPARAÇÃO ENTRE OS TRATAMENTOS APÓS APLICAÇÃO,
MORANGOS ‘SAN ANDREAS’**

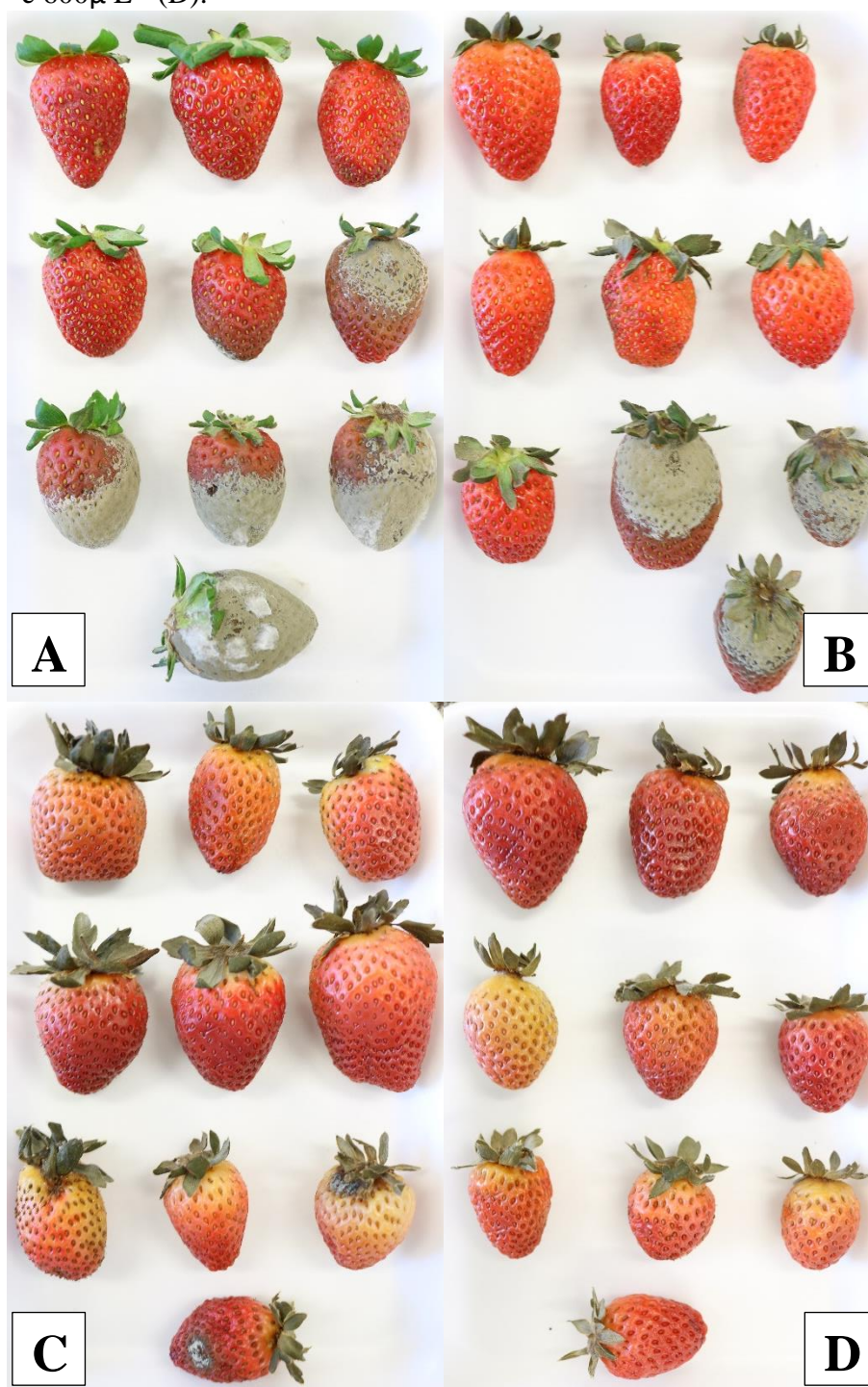
Figura 5 – Morangos ‘San Andreas’ submetidos aos tratamentos controle (A); óleo essencial de melaleuca $100\mu\text{ L}^{-1}$ (B); $300\mu\text{ L}^{-1}$ (C); e $600\mu\text{ L}^{-1}$ (D).



Fonte: Elaborada pela autora, 2020.

ANEXO C – COMPARAÇÃO ENTRE OS TRATAMENTOS APÓS 36 HORAS EM CONDIÇÕES AMBIENTE, MORANGOS ‘SAN ANDREAS’

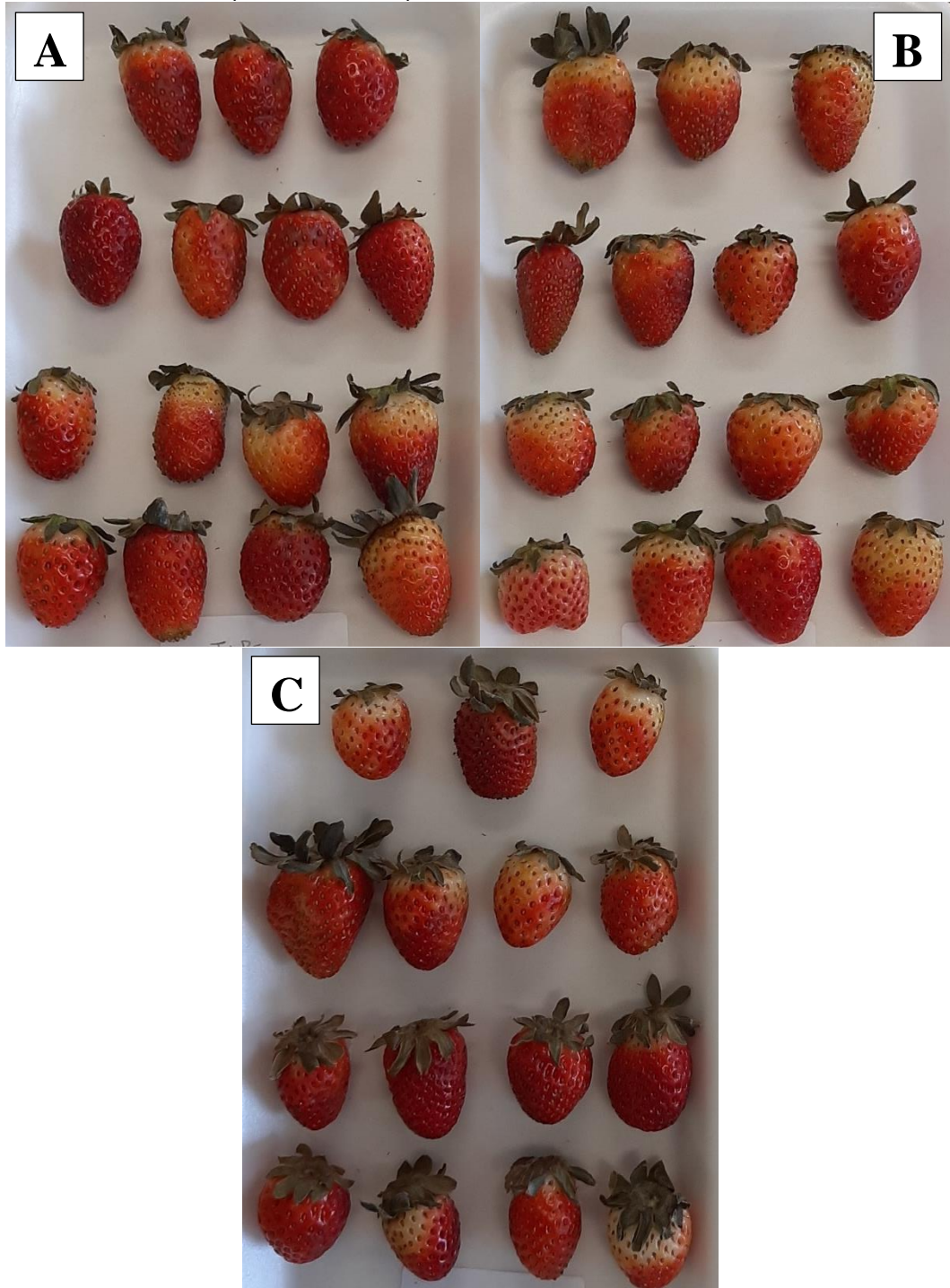
Figura 6 – Morangos ‘San Andreas’, 36 horas em condições ambiente, submetidos aos tratamentos controle (A); óleo essencial de melaleuca $100\mu\text{ L}^{-1}$ (B); $300\mu\text{ L}^{-1}$ (C); e $600\mu\text{ L}^{-1}$ (D).



Fonte: Elaborada pela autora, 2020.

**ANEXO D – COMPARAÇÃO ENTRE OS TRATAMENTOS APÓS APLICAÇÃO,
MORANGOS ‘ALBION’**

Figura 7 – Morangos ‘Albion’ submetidos aos tratamentos controle (A); óleo essencial de melaleuca $50\mu\text{ L}^{-1}$ (B) e $200\mu\text{ L}^{-1}$ (C).



Fonte: Elaborada pela autora, 2020.

**ANEXO E – COMPARAÇÃO ENTRE OS TRATAMENTOS APÓS 72 HORAS EM
CONDIÇÕES AMBIENTE, MORANGOS ‘ALBION’**

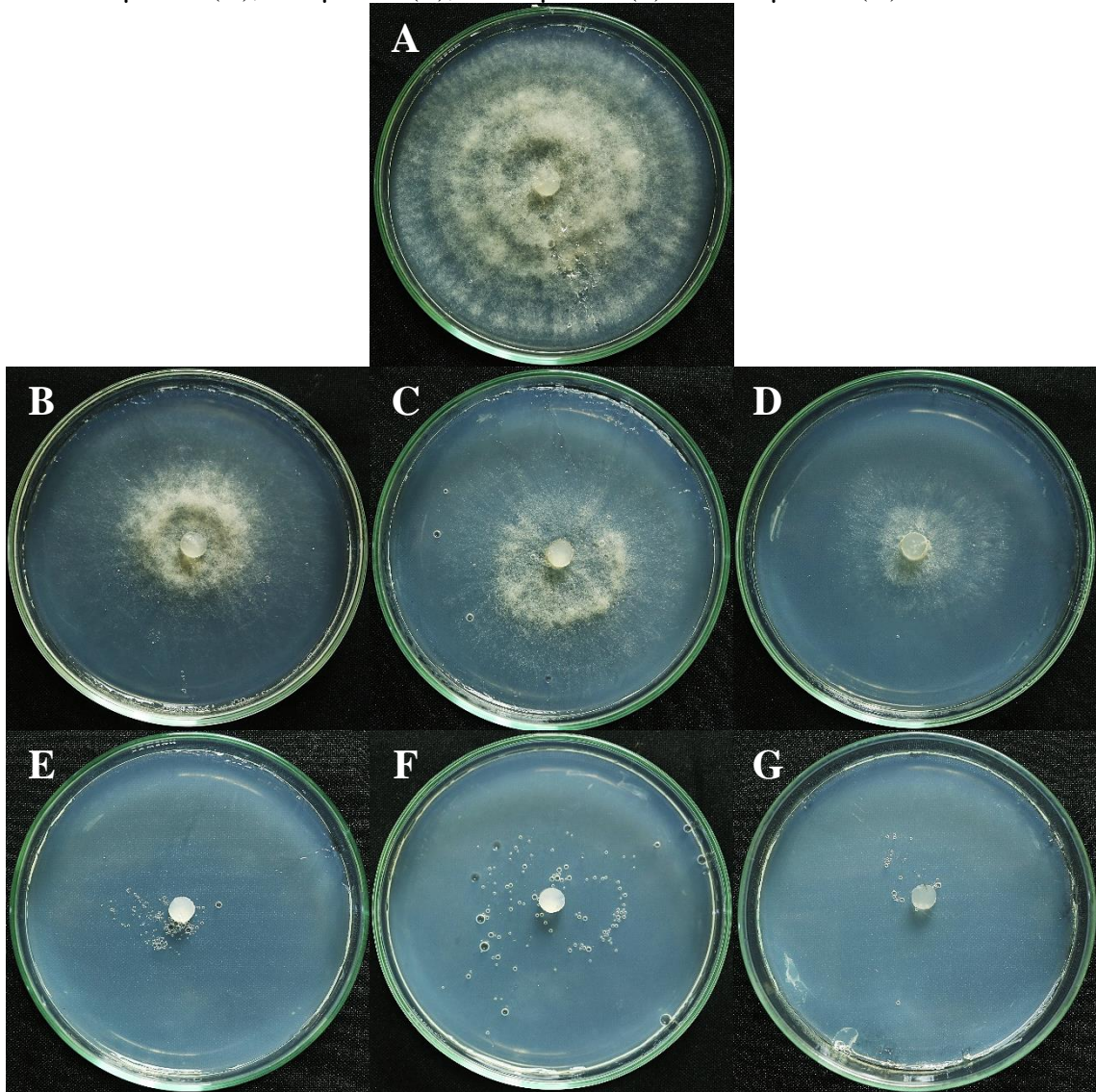
Figura 8 – Morangos ‘Albion’, 72 horas em condições ambiente, submetidos aos tratamentos controle (A); óleo essencial de melaleuca $50\mu\text{ L}^{-1}$ (B) e $200\mu\text{ L}^{-1}$ (C).



Fonte: Elaborada pela autora, 2020.

ANEXO F – COMPARAÇÃO ENTRE OS TRATAMENTOS *in vitro*

Figura 9 – Crescimento micelial de *Botrytis cinerea* (A), isolado em meio BDA, após 5 dias de incubação a 23°C e 12 h de fotoperíodo, com o óleo essencial de melaleuca (*Melaleuca alternifolia*) fumigado nas doses de 10 $\mu\text{L L}^{-1}$ (B), 50 $\mu\text{L L}^{-1}$ (C), 100 $\mu\text{L L}^{-1}$ (D), 500 $\mu\text{L L}^{-1}$ (E), 1.000 $\mu\text{L L}^{-1}$ (F) e 2.000 $\mu\text{L L}^{-1}$ (G).



Fonte: Elaborada pela autora, 2020.