

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
FACULDADE DE AGRONOMIA ELISEU MACIEL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS



DISSERTAÇÃO

**RADIAÇÃO UV-C DURANTE O CULTIVO DE MORANGUEIROS (*Fragaria*
x ananassa Duch.), CV. CAMAROSA, ALTERA O METABOLISMO E A**
QUALIDADE DOS FRUTOS

Isadora Rubin de Oliveira
Bacharel em Química de Alimentos

Pelotas, 2013.

Dados de catalogação na fonte:

(Marlene Cravo Castillo – CRB-10/744)

O48r Oliveira, Isadora Rubin de
Radiação UV-C durante o cultivo de
morangueiros(Fragaria x anassa Duch.) cv. Camarosa,
altera o metabolismo e a qualidade dos frutos / Isadora
Rubin de Oliveira ; orientadores Cesar Valmor
Rombaldi e Fábio Clasen Chaves - Pelotas,2013.-80f. ;
il.- Dissertação (Mestrado) –Programa de Pós-
Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos.
Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel . Universidade
Federal de Pelotas. Pelotas, 2013.

1.Estresse abiótico 2.Fitoquímicos 3.Mofo
cinzento 4.Proteínas relacionadas à patogênese
5.Morangueiros I.Chaves, Fábio Clasen(orientador) II
.Rombaldi, César Valmor(orientador) III. Título.

CDD 634.75

**ISADORA RUBIN DE OLIVEIRA
BACHAREL EM QUÍMICA DE ALIMENTOS**

**RADIAÇÃO UV-C DURANTE O CULTIVO DE MORANGUEIROS (Fragaria
x ananassa Duch.), CV. CAMAROSA, ALTERA O METABOLISMO E A
QUALIDADE DOS FRUTOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos

Orientação: Cesar Valmor Rombaldi
Fabio Clasen Chaves

PELOTAS
Rio Grande do Sul – Brasil
Fevereiro , 2013.

Banca Examinadora

Prof. Dr. Cesar Valmor Rombaldi – (DCTA/UFPel) – ORIENTADOR

Prof. Dr^a. Joseana Severo – (IF-Farroupilha) - EXAMINADOR

Prof. Dr^a. Candida Jacobsen – (PPGFs/UFPel) – EXAMINADOR

Prof. Dr. Leonardo Nora (DCTA/UFPel) - EXAMINADOR

Dedico à minha família, amigos, professores e demais colegas de trabalho.

Agradecimentos

Agradeço à...

Deus pelo dom da vida, pela saúde e força que tem me proporcionado ao longo dos anos. Aos meus pais amados José Luiz de Oliveira e Maristela Rubin de Oliveira pelo amor, carinho e apoio incondicional em todos os momentos. Ao meu mano Alessandro Rubin de Oliveira pelo carinho, pelos conselhos e por sempre se fazer presente na minha vida. Aos demais familiares pelo apoio, em especial aos primos Paulo Rubin e Alexandra Rubin Cocco pela companhia e amizade. Aos amigos pelos momentos de descontração e alegria, em especial as queridas Daniele Barcelos e Stefani Altenhofen pelo tempo de dedicação e confiança.

Agradeço à Universidade Federal de Pelotas, em especial ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos e ao CNPq pela concessão de bolsa de estudo.

Ao querido professor Cesar Valmor Rombaldi por ter exercido com dedicação a função de orientador, pelos ensinamentos, pelo incentivo à pesquisa e pela amizade. Aos demais professores do Dpto. de Ciência e Tecnologia Agroindustrial, em especial ao professor Fabio Chaves pelos ensinamentos, pela presença diária ajudando com os problemas que surgiam no laboratório .

À Embrapa Clima Temperado em especial as colegas Giseli Crizel, Taisa Bandeira Leite e Rufino Fernandes Flores Cantillano pela parceria e pelos trabalhos realizados.

As queridas colegas e amigas Giseli Crizel e Renata Moura por terem me passado suas experiências e seus conhecimentos, sem elas este trabalho não teria sido realizado.

Ao secretário do Dpto. André Martins pelo trabalho prestado e pela amizade e a funcionária Mary pela limpeza do laboratório.

Aos estagiários, Liana Nunes Barbosa e Gustavo Zimmer pelo interesse demonstrado, pela disponibilidade e ajuda.

Aos demais colegas do PPGCTA e dos Laboratórios de Biotecnologia de Alimentos e Fisiologia Pós-Colheita de Frutos e Hortaliças.

Muito Obrigada!

*" Plante um pensamento, colha uma ação; plante uma ação, colha um hábito;
plante um hábito, colha um caráter; plante um caráter, colha um destino"*

Stephen Covey

Resumo

OLIVEIRA, Isadora Rubin de. **Radiação UV-C aplicada durante o cultivo de morangueiros (*Fragaria x ananassa* Duch.), cv. Camarosa, altera o metabolismo e a qualidade dos morangos.** 2013. 80f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

Durante o cultivo e na pós-colheita do morango, os frutos são altamente susceptíveis a podridão cinzenta, uma doença causada pelo fungo *Botrytis cinerea*. Assim, a utilização de altas doses de fungicidas durante a cultura é uma prática comum na produção deste fruto, levando a problemas de contaminações ambientais e de saúde. Neste estudo a aplicação de radiação UV-C sobre morangueiros foi realizado com o objetivo de avaliar os efeitos sobre a qualidade dos frutos. Uma redução da carga microbiana dos frutos foi observada, assim como uma menor incidência de podridões fúngicas. No entanto, a diminuição da produtividade, peso dos frutos e aumento do acúmulo de proteínas Bet v, que são conhecidas pelo potencial alergênico também foram observados. A atividade da enzima PAL, bem como o teor de compostos fenólicos e antocianinas foram maiores. A acumulação de ácido L-ascórbico, carotenóides e capacidade antioxidante também aumentou.

Palavras-chave: estresse abiótico, fitoquímicos, mofo cinzento, proteínas relacionadas à patogênese

Abstract

OLIVEIRA, Isadora Rubin de. **UV-C applied during cultivation of strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.), Cv. Camarosa, alters the metabolism and quality of strawberries.** 2013. 80f. Dissertation (Masters Degree) - Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal de Pelotas

Strawberry production is highly susceptible to grey mold, a disease caused by the fungus *Botrytis cinerea*. Thus, the use of high doses of fungicides during cultivation is a common practice in the production of this fruit, leading to environmental and health problems. In this study, application of UV-C radiation on strawberry plants was performed and the effects on fruit quality were evaluated. A reduction of the microbial load on the fruit surface and decreased incidence of fungal rots was observed. However, decreased productivity and fruit weight and increased accumulation of proteins Bet v, known to be allergenic, were also observed. PAL enzyme activity and accumulation of related compounds (phenolics and anthocyanins) were higher. Accumulation of L-ascorbic acid, carotenoids and antioxidant capacity also increased.

Keywords: abiotic stress, phytochemicals, gray mold, pathogenesis related proteins

Lista de Figuras

Figura 1: Vista do pseudofruto e aquênio (fruto).....	18
Figura 2: Via de biossíntese do ácido ascórbico	22
Figura 3: Biossíntese de carotenoides.....	24
Figura 4: Atuação da PAL no aminoácido L-fenilalanina.....	25
Figura 5: Estrutura genérica das antocianinas.....	26
Figura 6: Estrutura química de flavonas, flavonóis e isoflavonas.....	27
Figura 7: Esquema ilustrando os conceitos de resistência induzida (ISR) e resistência adquirida (SAR).....	32
Figura 8: Cultivo de morangueiros cv. Camarosa em casa de vegetação. (A) – Sem radiação UV-C, (B) – Com radiação UV-C.....	40
Figura 9: Estádios fenológicos do morango submetidos à radiação UV-C durante o cultivo.....	40
Figura 10: Contagem de mesófilos totais da superfície de morangos cv. Camarosa cultivados com e sem aplicação de radiação UV-C.....	45
Figura 11: Incidência de podridões fúngicas em morangos cv. Camarosa armazenados a $\pm 23^{\circ}\text{C}$ em ausência de luz. A – Sem UV-C, B – Com UV	47
Figura 12: Incidência de mofo cinzento após inoculação com <i>Botrytis cinerea</i> ao longo de três dias de armazenamento a $\pm 23^{\circ}\text{C}$. A – Sem UV-C, B – Com UV-C.....	47
Figura 13: (A) - Western blotting de proteínas Bet v em extratos proteicos de morangos sem UV-C (1) e com UV-C (2). (B) Western blotting de proteínas β -1,3-glucanases em extratos proteicos de morangos sem UV-C (1) e com UV-C (2).....	48
Figura 14: Atividade enzimática da PAL (A), teor de antocianinas (B), compostos fenólicos totais (c), carotenóides (D), ácido ascórbico (E) e atividade antioxidante (F) em morangos cv. Camarosa tratados com UV-C ou não tratados durante o cultivo.....	49

Lista de Tabelas

Tabela 1: Produtividade, e características físico-químicas de morangos tratados com e sem radiação UV-C durante o cultivo.....	46
---	----

Lista de abreviaturas e siglas

AA – Ácido Ascórbico
APX – Ascorbato peroxidase
BDA – Ágar batata dextrose
°C – Graus Celsius
Ca²⁺ - Cálcio divalente
CO₂ - Dióxido de carbono
cv – Cultivar
DHA – Dehidroascorbato
DMAPP – Pirofosfato de dimetilalila
DNA – Ácido desoxirribonucléico
DPPH - 2,2-difenil-1-picril-hidrazila
EC – Condutividade elétrica
FAO - Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura
g – Gramas
GGPP – Geranil geranil difosfato
°H - Ângulo Hue
h – Hora
HCl – Ácido clorídrico
H₂O₂ – Peróxido de hidrogênio
H₂SO₄ – Ácido sulfúrico
IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IPP – Pirofosfato de isopentenil
Kg – Kilograma
KJ – Kilojoule
KOH – Hidróxido de potássio
LTP – Proteína de transferência de lipídios
m² – Metro quadrado
MDHA – Monodehidroascorbato
MDHAR – Monodehidroascorbato redutase
mg – Miligrama
mL – Mililitro
µL – Microlitro
nm – Nanômetros

N – Newton

$^1\text{O}_2$ – Oxigênio singlete

O_2^- - Superóxido

OH – Hidroxila

PAL – Fenilalanina amônio-liase

PCA – Ágar padrão para contagem

pH – Potencial hidrogeniônico

PME – Pectina metilesterase

PPO – Polifenoloxidase

PRs – Proteínas relacionadas à patogênese

RH – Reação de hipersensibilidade

RNA – Ácido ribonucleico

ROS – Espécies reativas de oxigênio

SA – Ácido salicílico

TMV – Vírus do mosaico do tabaco

UV-A – Ultravioleta de 320 a 400 nm

UV-B – Ultravioleta de 280 a 320 nm

UV-C – Ultravioleta de 100-280 nm

Sumário

1.	Introdução.....	16
1.1	Hipótese.....	17
1.2	Objetivo.....	17
2.	Revisão da Literatura.....	19
2.1	Morango.....	19
2.2	Radiação UV-C.....	21
2.3	Metabolismo especializado.....	22
2.3.1	Ácido ascórbico.....	23
2.3.2	Carotenóides.....	24
2.3.3	Compostos fenólicos.....	25
2.3.4	Atividade antioxidante.....	29
2.4	Podridão cinzenta em vegetais.....	30
2.5	Resistência induzida associada as PR-proteínas.....	32
3.	Materiais e Métodos.....	38
3.1	Material vegetal.....	38
3.2	Avaliações agronômicas	40
3.2.1	Produtividade.....	40
3.2.2	Peso médio dos frutos.....	40
3.3	Avaliações físico-químicas.....	40
3.3.4	Acidez total titulável.....	40
3.3.5	Cor da epiderme.....	40
3.3.6	Firmeza de polpa.....	40
3.4	Avaliações fitossanitárias.....	41
3.4.1	Contagem de microrganismos mesófilos.....	41
3.4.2	Incidência de podridões fúngicas.....	41
3.4.3	<i>Western blotting</i> de proteínas Bet v e β -1,3-glucanases.....	42
3.5	Teor de fitoquímicos.....	42
3.5.1	Compostos fenólicos totais.....	42
3.5.2	Antocianinas totais.....	43
3.5.3	Carotenóides totais.....	43
3.5.4	Ácido ascórbico.....	43
3.5.5	Atividade antioxidante.....	44

3.6	Atividade da enzima fenilalanina amônia-liase.....	44
3.7	Análise estatística dos dados.....	44
4.	Resultados.....	44
5.	Discussão.....	48
6.	Considerações finais.....	56
7.	Agradecimentos.....	57
8.	Referências bibliográficas.....	58

1. Introdução

A produção mundial de frutos tem apresentado um crescimento contínuo, no triênio 89/91 a produção foi de 420,0 milhões de toneladas, em 1996 ultrapassou as 500 milhões de toneladas e, em 2009, colheu-se um total de 719,7 milhões de toneladas (IBGE, 2012). Segundo a FAO, os três maiores produtores são a China, a Índia e o Brasil que, juntos, respondem por 42,3% do total mundial de frutos e têm suas produções destinadas principalmente ao próprio mercado nacional. No caso de morangos, a produção mundial duplicou nos últimos 25 anos, e no ano de 2009 atingiu mais de 4,1 milhões de toneladas (FAO, 2010).

No entanto, embora no Brasil a produção de frutos seja promissora, as perdas pós-colheita ainda atingem valores de 30 a 40% do total produzido no País (SENHOR et al., 2008). Nesse contexto, o morango é um dos frutos que apresentam altos percentuais de perdas, devido ao elevado metabolismo e ao transporte e armazenamento inadequados, que favorecem o surgimento de podridões. Estima-se que 40% do total da produção de morangos é perdida após a colheita (VANDENDRIESSCHE et al., 2012).

O morango é uma espécie de importância econômica, tanto pela geração de renda para quem o produz, quanto pela renda gerada no processamento e/ou comercialização. É um fruto amplamente consumido no mundo em função da aparência, sabor e aroma característicos (ABBY et al., 2005). Além disso, o morango é rico em compostos bioativos, com destaque para o ácido ascórbico e compostos fenólicos, dentre esses os ácidos fenólicos e as antocianinas (CEREZO et al., 2010; GIAMPIERI et al., 2012). Entretanto, é um fruto altamente perecível em função da baixa resistência mecânica e do acelerado metabolismo (10 a $15 \text{ mg CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ a 0°C e 65 a $90 \text{ mg CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ a 20°C) (CANTILLANO; SILVA, 2010). Após a colheita, há incremento da respiração, e redução da firmeza de polpa, o que facilita o ataque de fungos, sendo *Botrytis cinerea*, maior agente causador de podridão desse fruto (POMBO et al., 2011). Na tentativa de impedir o crescimento do fungo, o uso de fungicida é a prática mais utilizada no cultivo do morango. Porém a detecção de elevados teores de resíduos químicos nos frutos tem sido motivo

de restrição ao consumo (OSHITA, 2012). Nesse contexto, se faz necessário estudar novas tecnologias durante o cultivo e a pós-colheita, com o intuito de tornar essa cultura mais resistente a patógenos, reduzindo perdas através de métodos que não afetem o ambiente, nem a saúde do produtor ou do consumidor. Uma das estratégias para se chegar a esse objetivo é buscar alternativas que ativem vias metabólicas do metabolismo especializado dos frutos. O uso da radiação UV-C aplicada na pós-colheita de frutos tem gerado resultados promissores, com destaque para a desinfecção superficial de frutos e aumento no teor de fitoquímicos com ação antioxidante (CHARLES et al., 2008, ERKAN, et al., 2008; HEMMATY et al., 2006), menor ocorrência de podridões (POMBO et al., 2011), retardo da maturação (LÓPEZ-MALO e PALOU, 2005) e aumento de PR-proteínas (CHARLES et al., 2009).

Entretanto, até o presente momento, a totalidade de estudos propõe o uso da radiação UV-C na pós-colheita de morangos e não há relatos na literatura sobre as características funcionais e de qualidade de morangos cultivados sob tratamento com radiação UV-C. Acredita-se que a radiação UV-C aplicada durante o cultivo do morangueiro, possa promover indução do metabolismo especializado dos frutos supostamente responsáveis pela defesa contra patógenos e aumentar os teores de compostos fitoquímicos responsáveis pela atividade antioxidante dos morangos.

1.1 Hipótese

a) A radiação UV-C aplicada durante o cultivo de morangueiros cv. Camarosa, promove uma desinfecção nos morangos, aumenta o teor de PR-proteínas como as Bet v e as β ,1-3-glucanases, diminui a incidência de podridões fúngicas, aumenta a atividade enzimática da PAL, bem como o teor de compostos fenólicos totais, antocianinas totais, carotenoides totais, ácido ascórbico e atividade antioxidante dos frutos.

1.2 Objetivo

Estudar a influência da radiação UV-C aplicada durante o cultivo de morangueiros, cv. Camarosa, na incidência de podridões fúngicas, nos teores de PR-proteínas (Bet v e β -1,3-glucanases), nos teores de compostos

fitoquímicos, na atividade da enzima fenilalanina amônia-liase (PAL) e na capacidade antioxidante dos frutos.

2. Revisão Bibliográfica

2.1 Morango

O morangueiro é botanicamente classificado como uma hortaliça pertencente à família *Rosaceae*, subfamília *Rosoidea* e gênero *Fragaria* (PERKINS-VEAZIE, 2010), sendo as variedades atuais resultantes do cruzamento entre *Fragaria chiloensis* e *Fragaria virginiana* (SANTOS, 1999). O morangueiro é uma planta herbácea, rasteira, com características de cultura perene, porém cultivada como uma cultura anual. Sua reprodução ocorre assexuadamente, através de hastes rastejantes que crescem horizontalmente, e produzem por meio de brotações denominadas estolões mudas geneticamente idênticas à planta-mãe (RAVEN et al., 2007). Aproximadamente 80 dias após o plantio das mudas se inicia a colheita dos frutos, que de fato, são pseudofrutos, mas que durante o trabalho receberá denominação de fruto.

O morango é resultante do crescimento do receptáculo de um conjunto de flores fertilizadas, sendo o fruto verdadeiro o aquênio, também conhecido popularmente como semente (Fig.1). Do ponto de vista econômico, o morango possui grande participação na economia nacional e mundial (MADAIL et al., 2007). Os principais países produtores são os Estados Unidos, Espanha, Coréia, Rússia, Polônia, Japão e Turquia (ARAUJO, 2011). Embora o Brasil não se situe entre os maiores produtores, sua produção vem crescendo nos últimos anos (FAO, 2010). Atualmente a produção de morango atinge 133 mil toneladas, obtida em uma área de aproximadamente 3.718 hectares, sendo Minas Gerais, São Paulo e Rio Grande do Sul os três estados com maior produção (RADIN et al., 2011). As principais cultivares utilizadas provém da Universidade da Califórnia nos EUA, com destaque para cv. Aromas, cv. Camarosa e cv. Oso Grande (OLIVEIRA et al., 2007).

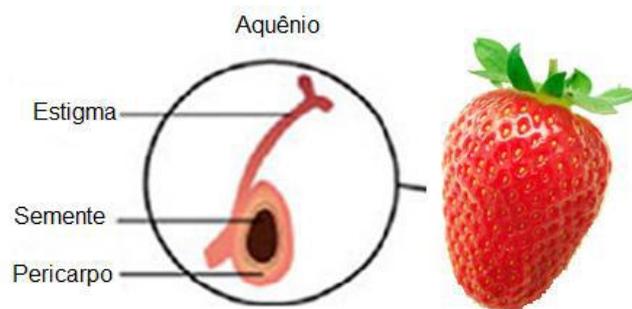


Figura 1. Vista do pseudofruto e aquênio (fruto).

Fonte: EMBRAPA,2010.

Em relação às características funcionais, esse fruto apresenta elevados teores de compostos antioxidantes que são capazes de neutralizar a ação dos radicais livres (KHANIZADEH, 2009; PINCEMAIL et al., 2012). A importância do consumo de morangos para a saúde humana está correlacionada com resultados positivos obtidos de estudos *in vitro* e *in vivo* que demonstram a ação dos compostos antioxidantes no combate à proliferação de células cancerígenas, colesterol, glicemia e obesidade (SEERAM et al., 2006; AZZINI et al., 2010; HENNING et al., 2010; ZUNINO et al., 2012). Dentre os compostos relacionados com essas propriedades, destacam-se o ácido ascórbico e os compostos fenólicos, especialmente os ácidos fenólicos e as antocianinas (TULIPANI et al., 2011).

Entretanto, do ponto de vista tecnológico, o morango ainda enfrenta problemas durante o cultivo e na pós-colheita que incluem a podridão cinzenta, uma das principais doenças dessa cultura, causada pelo fungo *Botrytis cinerea* (XU et al.,2012), que promove a elevada perecibilidade do fruto, limitando a vida útil na pós-colheita. Sabe-se que, o uso de fungicidas em todo o ciclo de produção, a fim de produzir frutos com aspecto saudável é uma prática corrente na produção desse fruto (OSHITA et al., 2012). No entanto, aumentam os riscos de ocorrência de resíduos químicos no morango que podem acarretar em sérias consequências à saúde (FERNANDES et al., 2011). Frente a esse problema, faz-se necessário o aprimoramento da tecnologia de cultivo, utilizando práticas agrícolas que não produzam resíduos tóxicos ao meio ambiente e à população, e que sejam capazes de estimular a resistência a podridões, e/ou no mínimo, reduzir a incidência de doenças.

2.2 Radiação UV-C

A radiação ultravioleta (UV) é parte do espectro eletromagnético referente aos comprimentos de onda entre 100 e 400 nm. De acordo com a intensidade que a radiação UV é absorvida pelo oxigênio, pelo ozônio e também pelos efeitos fotobiológicos, costuma-se classificar a região UV em três intervalos: UV-A (320-400 nm), UV-B (280-320 nm) e UV-C (100-280 nm) (KOVÁCS; KERESZTES, 2002)

Na busca de tecnologias limpas que minimizem a contaminação microbiana de frutos e hortaliças e diminuam o uso de agrotóxicos, a radiação UV-C tem sido utilizada na pós-colheita, e mais recentemente durante o cultivo de pequenos frutos, principalmente devido à sua ação germicida (ERKAN; WANG; KRISEK, 2001; MONZOCCO et al., 2011). Essa radiação tem como alvo o material genético (DNA/RNA) de bactérias e fungos. Ela age penetrando na célula, onde provoca um rearranjo da informação genética, interferindo na capacidade de reprodução da célula por dano fotoquímico, podendo haver a formação de dímeros de timina que irão bloquear a ação da DNA *polimerase*, impedindo que a célula possa se replicar, ocasionando a morte celular (ZAHA, 2011). Além da ação germicida, a radiação UV-C aplicada na pós-colheita de frutos e hortaliças tem provocado retardo da senescência de diferentes espécies vegetais (ERKAN et al., 2001; COSTA et al., 2006; POMBO et al., 2009; SEVERO, 2012); aumento do teor de compostos fenólicos e da capacidade antioxidante (ERKAN, WANG, WANG, C. 2008; SEVERO, 2009); alteração da expressão de transcritos de genes das enzimas que atuam na hidrólise da parede celular do morango (POMBO, et al., 2011; SEVERO, 2012); aumento de transcritos dos genes que codificam para proteínas relacionadas a patogênese (PR-proteínas) como quitinases, β -1,3-glucanases e proporcionado indução de resistência a *Botrytis cinerea* (CHARLES et al., 2008a; CHARLES et al., 2009b; POMBO et al., 2011).

A exposição do tecido vegetal a radiação UV eleva o nível de espécies reativas de oxigênio (ROS), tais como oxigênio singlete (1O_2), superóxido (O_2^-), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), e hidroxila (OH) que podem causar danos oxidativos às proteínas, aos lipídios e ácidos nucleicos, o que levaria ao dano celular e à morte celular (GILL; TUTEJA, 2010; GECHEV; HILLE, 2012). Com

isso, as plantas ativam sistemas antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos e a produção de metabólitos especializados buscando neutralizar o efeito destrutivo de ROS (JANSEN et al., 2008). Ao ser detectado um aumento no nível de ROS o sistema de sinalização da planta ativa enzimas responsáveis pelas vias de transdução de sinais que manifestam mudanças celulares e fisiológicas com a finalidade de proteger a planta contra o estresse (SEVERO, 2009; SEVERO, 2012). Entretanto, estudos com a radiação UV-C aplicada durante o cultivo de frutos ainda são desconhecidos na literatura, e acredita-se que esse estresse aplicado durante o cultivo possa resultar em benefícios à qualidade dos frutos.

2.3 Metabolismo especializado

As plantas possuem um metabolismo global extremamente eficiente no que diz respeito ao crescimento, desenvolvimento e defesa classificados em dois sistemas: metabolismo primário e metabolismo secundário (TAIZ; ZEIGER, 2009). No metabolismo primário estão as moléculas básicas para o funcionamento da célula como aminoácidos, lipídios, proteínas e ácidos nucléicos. Já no metabolismo secundário ou especializado, são produzidas outras moléculas que não são consideradas básicas na estrutura das células, mas que normalmente aparecem em tecidos e órgãos específicos da planta, em diferentes estádios de desenvolvimento da planta, ou em apenas algumas espécies (HOPKINS & HUNER, 2004). Os metabólitos especializados são características específicas desenvolvidas durante a evolução, quando as plantas tiveram a necessidade de usar um mecanismo de adaptação para competir com outras, assegurando sua sobrevivência (SOUZA; ALVES, 2002), para auxiliar na defesa e na proteção contra estresses bióticos ou abióticos (TAIZ; ZEIGER, 2009; ERKAN et al., 2008; KEUTGEN; RAMAKRISHNA.; RAVISHANKAR, 2011).

Os compostos do metabolismo especializado das plantas podem ser classificados em três grupos: terpenos, compostos fenólicos e compostos nitrogenados (SHAHIDI; HO, 2005; DOERFLER et al., 2012). Esse metabolismo é responsável pela grande variedade de compostos com capacidade de neutralizar os radicais livres, como os de origem fenólica (ácidos fenólicos, flavonóis, antocianinas) e/ou a combinação destes compostos e o

et al., 2005). O AA possui um grupo ene-diol nos átomos de carbono 2 e 3 que são responsáveis por sua propriedade ácida e redutora, pois ele pode se ionizar e doar elétrons. Dessa forma, o AA reage com as ROS tais como H_2O_2 , O^{2-} e 1O_2 inativando-as devido a sua capacidade antioxidante (ASARD; MAY; SMIRNOFF, 2004). Os seres humanos e outros mamíferos, não possuem capacidade de sintetizar AA, porque o gene que codifica para a enzima que catalisa o último passo na biossíntese de L-gulona-1,4-lactona oxidase não é funcional devido a mutações. Portanto, uma dieta que forneça AA para os seres humanos é fundamental, uma vez que essa vitamina atua na formação do tecido conjuntivo, na biossíntese de colágeno, na regulação de vários genes responsáveis pelo metabolismo energético, no controle de infecções e inflamações e contra danos causados pelo estresse oxidativo celular (TRABER; STEVENS, 2011; CRUZ-RUS et al., 2011).

Nas plantas, o AA participa de uma variedade de processos, incluindo fotossíntese, fotoproteção, crescimento da parede celular, expansão celular, resposta a estresses ambientais e síntese de etileno, giberelina, antocianinas e hidroxiprolina (CONKLIN; BARTH, 2004). O teor de AA nas plantas varia com mudança de luz, hora do dia, idade da planta, tecido da planta, (LORENCE et al., 2004), e compartimento celular (ZECHMANN; STUMPE; MAUCH, 2011). Isso ocorre, pois o AA é uma parte do sistema antioxidante vital para neutralizar os radicais livres gerados como produtos colaterais, é também um co-fator para muitas enzimas e controla a divisão celular. Podendo ser importante no retardo da senescência das plantas, defesa e respostas ao estresse (DEBOLT; MELINO; FORD, 2007; CRUZ-RUS et al., 2011).

2.3.2 Carotenoides

Os carotenóides representam um grupo de pigmentos naturais lipossolúveis com tonalidades que variam do amarelo ao vermelho, mudando para o azul, sendo amplamente encontrados em frutos (IBDAH et al., 2006). São formados por unidades de isopreno, derivados da rota metabólica de produção de terpenos e esteróis pela via do mevalonato, através do acetil CoA, que forma o pirofosfato de isopentanila (IPP) e seu isômero pirofosfato de dimetilalila (DMAP) e que darão origem ao geranyl geranyl difosfato (GGPP), que pela ação da fitoeno sintase, formará fitoeno dando origem aos

politerpenos, alguns deles como o β -caroteno, o licopeno, a zeaxantina, a criptoxantina e a luteína (Fig.3), (TAIZ; ZEIGER, 2009). Nas plantas, os carotenoides são sintetizados e estocados nos plastídios, absorvendo e transferindo luz para a clorofila, além de oferecer proteção aos tecidos fotossintéticos contra a fotoxidação (TAIZ; ZEIGER, 2009). A biossíntese de carotenóides é essencial para a proteção contra danos causados pela luz e o oxigênio atmosférico resultando em uma maior produção deste pigmento nos tecidos fotossintéticos das plantas (ZHOU et al., 2011). Estes pigmentos, como o β -caroteno, atuam em diversos processos vitais dos animais, como na manutenção da visão, na integridade do sistema imunológico, na formação e manutenção do tecido epitelial, nas estruturas ósseas e dentes, na diferenciação, proliferação celular, reprodução e crescimento (CARDOSO et al., 2011).

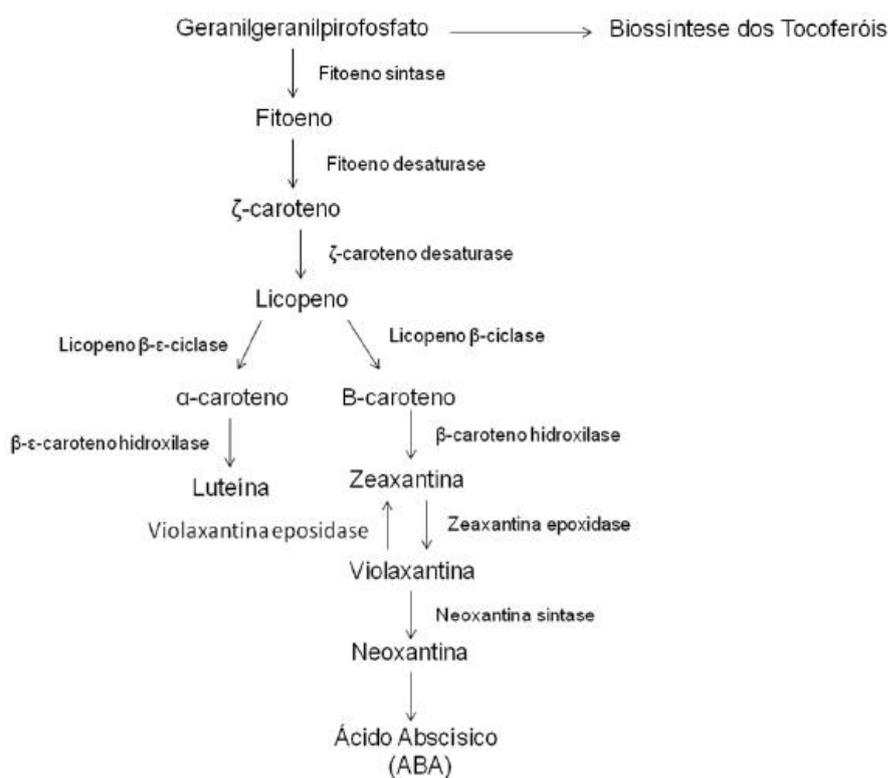


Figura 3 – Biossíntese simplificada de carotenoides

Fonte: Adaptado de TANAKA et al., 2008.

2.3.3 Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos englobam uma ampla variedade de moléculas, que por sua constituição química, possuem propriedades capazes de inativar

radicais livres. Os compostos fenólicos são substâncias químicas que apresentam, no mínimo, uma hidroxila diretamente ligada a um anel aromático (YAMADA, 2004; AABY et al., 2012). Alguns são solúveis apenas em solventes orgânicos, enquanto outros são solúveis em água. Essas moléculas agem na planta como compostos de defesa contra herbívoros e patógenos, podem possuir ação alelopática e outros podem atrair polinizadores e dispersores de sementes, além de proteger as plantas frente aos raios UV (TAIZ; ZEIGER, 2009; KEUTGEN & PAWELZIK, 2007). Para a formação desses compostos fenólicos estão envolvidas duas rotas metabólicas, a rota do ácido mevalônico e a rota do ácido chiquímico. A classe mais abundante de compostos fenólicos em plantas é derivada da rota do ácido chiquímico (TAIZ & ZEIGER, 2009). Isso ocorre através da eliminação da amônia do aminoácido fenilalanina pela ação da enzima fenilalanina amônia-liase (PAL, E.C 4.3.1.24) (Fig.4), ocorrendo à formação do ácido cinâmico precursor da formação dos compostos fenólicos vegetais, incluindo fenilpropanóides cumarinas, lignina, antocianina, isoflavonas, taninos, flavonóides, entre outros (YAMADA, 2004; JIN et al., 2011).

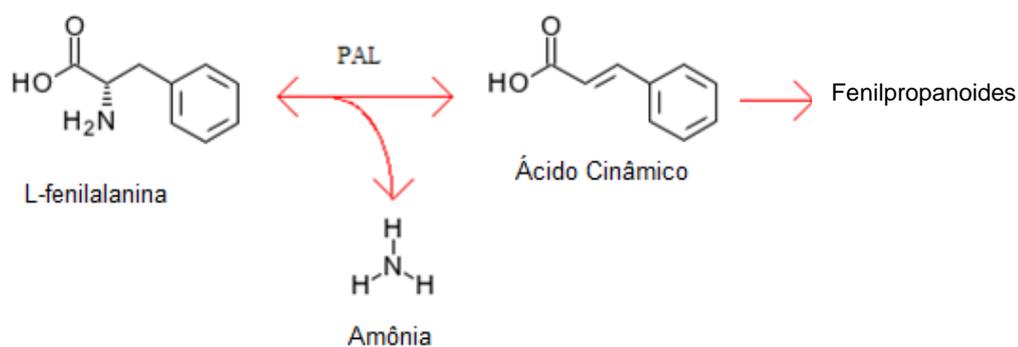


Figura 4 - Atuação da fenilalanina amônia-liase no aminoácido L-fenilalanina.

Fonte: Adaptado de KEGG, 2009.

A totalidade de espécies vegetais possui constituintes fenólicos na sua composição química (RICE-EVANS, 2001; STAHL; SIES, 2007). Dentre esses compostos encontram-se os flavonóis, flavonas, isoflavonas, taninos e antocianinas. No morango, as antocianinas recebem maior atenção, em função de serem as grandes responsáveis pela coloração vermelha brilhante e a concentração e composição são, portanto, importantes para a qualidade

sensorial e funcional dos frutos. As antocianinas são flavonóides amplamente distribuídos na natureza (MALACRIDA; MOTTA, 2006) e são as principais responsáveis pela coloração da maioria dos frutos, podendo colorir frutos numa faixa que varia entre o vermelho e o azul. Esta cor é influenciada por muitos fatores, incluindo o número de grupos hidroxila e metoxila no anel B da antocianidina (TAIZ; ZEIGER, 2009) e o pH em que esses pigmentos estão armazenados no vacúolo celular (CASTAÑEDA-OVANDO et al., 2009). A molécula de antocianina é constituída por duas ou três porções, uma de aglicona (antocianidina), um grupo de açúcares e, freqüentemente, um grupo de ácidos orgânicos. Estudos mais avançados mostraram estruturas antociânicas agem reparando e protegendo a integridade genômica do DNA, e são benéficas por reduzir o estresse oxidativo decorrente da ação de radicais livres que podem ocasionar sérios impactos na saúde humana (DIMITRIUS, 2006; IGNAT; VOLF; POPA, 2011). Seu potencial antioxidante é dependente das diferenças na sua estrutura química, variando com a posição, os tipos de grupos químicos nos anéis aromáticos (Fig.5), a capacidade de aceitar elétrons desemparelhados, o número e a posição dos grupos hidroxilas e sua conjugação.

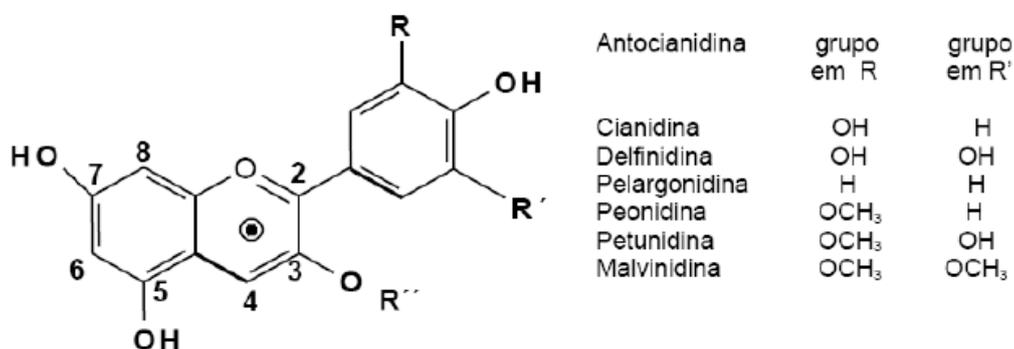


Figura 5 - Estrutura genérica das antocianinas

Fonte: LIMA; GUERRA, 2003.

Outros dois grupos de compostos fenólicos amplamente presente em vegetais, são os flavonóis e as flavonas (Fig. 6), essas moléculas possuem um núcleo básico flavílio, que consiste de dois anéis aromáticos unidos por uma unidade de três carbonos e condensados por um átomo de oxigênio (MEYERS et al., 2003; CASTAÑEDA-OVANDO et al., 2009), sendo os compostos mais

diversificados do reino vegetal. Essas duas classes de flavonoides agem na proteção das células vegetais contra o excesso de radiação UV-B (280-320 nm) pois se acumulam nas camadas epidérmicas das folhas e caules e absorvem intensamente a luz na região UV-B, enquanto permitem a passagem contínua dos comprimentos de luz visível (fotossinteticamente ativos). Além disso, foi demonstrado que o aumento da exposição de plantas a luz UV-B resulta na maior síntese de flavonas e flavonóis (TAIZ; ZEIGER, 2009). Os flavonóis como os glicosídeos de quercetina e kaempferol, ésteres de ácidos hidróxicinâmicos, especialmente p-cumárico e ácido elágico, estão presentes no morango em baixas concentrações (AABY et al., 2012).

As isoflavonas constituem um grupo de flavonoides que possuem um anel aromático (anel B) que está invertido (Fig. 6). As isoflavonas têm se tornado conhecidas pela sua função como fitoalexinas, compostos antimicrobianos sintetizados em resposta à infecção por fungos ou bactérias que podem limitar a propagação do patógeno invasor (TAIZ; ZEIGER, 2009).

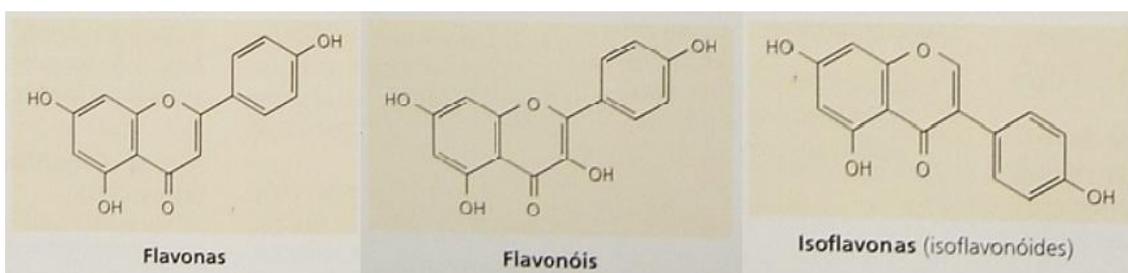


Figura 6 - Estrutura química de flavonas, flavonóis e isoflavonas.

Fonte: TAIZ; ZEIGER, 2009.

No morango também são encontrados taninos hidrolisáveis, ou elagitaninos, além de altas concentrações de taninos condensados ou proantocianidinas (CLIFFORD; SCALBERT, 2000). A concentração de proantocianidinas é muitas vezes subestimada, porque são analisadas em conjunto com os compostos fenólicos mais solúveis em água e não com o método ótimo para extração e separação desses polímeros (BUENDIA et al., 2010).

2.3.4 Atividade antioxidante

Os alimentos com atividade antioxidante são denominados de funcionais e apresentam diferentes constituintes químicos na sua maioria provenientes do metabolismo especializado (AABY; EKEBERG; SKREDE, 2007; RAMAKRISHNA; RAVISHANKAR, 2011). A atividade antioxidante de um determinado fruto é normalmente resultante da interação de seus compostos, podendo haver efeitos sinérgicos (KUSKOSKI et al. 2006). Tais compostos incluem os fenóis (ácidos fenólicos e seus derivados, flavonóides, tocoferóis), ácido ascórbico, pigmentos e esteróis (ROESLER et al., 2007; CERESO et al., 2011). Os antioxidantes são capazes de inibir e/ou retardar a velocidade de reações oxidativas de diversos substratos, de moléculas simples até polímeros e de biosistemas complexos, através de dois mecanismos: o primeiro envolve a inibição de radicais livres que possibilitam a etapa de iniciação; o segundo abrange a eliminação de radicais importantes na etapa de propagação, como alcóxila e peróxila, através da doação de átomos de hidrogênio a estas moléculas, interrompendo a reação em cadeia (SOARES, 2002; ROESLER et al., 2007; GIAMPIERI et al., 2012).

A eficiência do antioxidante é determinada pelos grupos funcionais presentes e pela posição que ocupam no anel aromático, bem como pelo tamanho da cadeia desses grupos (MELO; GUERRA, 2002). É denominado radical livre qualquer átomo ou molécula contendo um ou mais elétrons desemparelhados nos orbitais externos. Isto pode torná-lo altamente reativo, capaz de reagir com qualquer espécie situada próxima a sua orbita externa, passando a ter uma função oxidante de elétrons, sendo altamente instáveis, com meia-vida curtíssima e quimicamente muito reativas, gerando reações em cadeia (SOARES, 2002). Há evidências que a propriedade antioxidante se deve, principalmente, à estrutura fenólica (MELO; GUERRA, 2002; SAHREEN; KHAN; KHAN, 2010). A capacidade antioxidante dos compostos fenólicos vem sendo relacionada à presença de grupos hidroxila em sua estrutura química, fator considerado crítico para a neutralização de radicais livres. Essa neutralização é primariamente atribuída à alta reatividade dos substituintes hidroxilas (OH^\cdot) que neutralizam os radicais livres. O grupamento hidroxila cede um átomo de hidrogênio e um elétron para o radical livre, estabilizando-o. Devido à capacidade do grupo aromático presente na estrutura dos compostos

fenólicos se reestruturarem frente ao desemparelhamento de elétrons, a estrutura do mesmo se mantém estável (KUSKOSKI et al., 2006; DOERFLER et al., 2012) sem que seja formado um novo radical livre na célula.

2.4 Podridão cinzenta em vegetais

Mofo cinzento é uma podridão bastante comum que ocorre em todas as regiões do mundo onde se cultiva o morangueiro, esta doença determina graves prejuízos em frutos antes ou após a colheita. Estima-se que o mofo cinzento pode causar perdas de rendimento de até 25% em morangos (WILLIAMSON et al., 2007; ZHANG, et al., 2007). As melhores condições para o surgimento da doença são a alta umidade e temperaturas entre 20° a 25°C. Nestas condições, pode-se observar grande perda de frutos causada pelo mofo cinzento (GALLI et al., 1997). Segundo a classificação de McNew, baseada no processo fisiológico interferido pelo patógeno, o mofo cinzento pertence ao grupo 1, referente ao armazenamento de nutrientes (MICHEREFF, 2001). O agente causal do mofo cinzento é o *Botrytis cinerea* Pers. & F., esse fungo é pertencente ao Filo Ascomycota, Subfilo Pezizomycotina, Classe Leotiomycetes, Ordem Helotiales, Família Sclerotiniaceae, Gênero Botryotinia e Espécie *B. cinerea* (WHETZEL, 1945).

B. cinerea não é um patógeno específico do morangueiro, pois ocorre em um grande número de espécies de vegetais, causando podridões semelhantes. *Botrytis cinerea* é um fungo que infecta culturas ao final do ciclo; é considerado necrotrófico, requerendo a morte das células hospedeiras para progressão da infecção (ROSSLENBROICH; STUEBER, 2000; HOEBERICHTS; TEN HAVE; WOLTERING, 2003).

No início da infecção a podridão se apresenta como uma mancha de cor marrom claro, com uma consistência mole, mas não aquosa, que evolui rapidamente por todo o fruto apodrecendo-o completamente. Ao final da infecção as partes do fruto ficam recobertas por um bolor cinzento seco e firme, constituído por conidióforos e conídios do fungo. Eventualmente os frutos podem se tornar mumificados. O fungo também afeta flores, pedúnculos, cálices e folhas, onde produz lesões com características semelhantes às produzidas no fruto (BERGAMIN; KIMATI; AMORIM, 1995; ROSSLENBROICH; STUEBLER, 2000; XU et al., 2012). No morango, e em outros frutos, a

infecção inicial pelo fungo ocorre na flor, onde o mesmo permanece em quiescência até o nascimento e amadurecimento dos frutos, que irão favorecer a esporulação e crescimento do patógeno (KOVACH; PETZOLDT; HARMAN, 2000; VIRET et al., 2004; XU et al., 2012). A ocorrência de danos na superfície de frutos, e danos mecânicos oriundos do transporte e armazenamento na pós-colheita, poderão desempenhar um papel significativo no agravamento da infecção, especialmente em condições ambientais favoráveis. Devido à grande importância dessa doença em plantas frutíferas, duas principais linhas de pesquisa estão sendo seguidas no mundo: a geração de plantas resistentes e a concepção de fungicidas mais específicos e eficientes (WILLIAMSON et al., 2007).

Durante todo o curso de interação entre o *B. cinerea* e seu hospedeiro, a planta tenta impedir a invasão do patógeno por meio da ativação de múltiplas vias de defesa, incluindo a produção de metabólitos antifúngicos (fitoalexinas) e proteínas relacionadas a patogênese (PR-proteínas) (VAN BAARLEN et al., 2007; AMIL-RUIZ et al., 2011; XU et al., 2012). Em *Arabidopsis* a camalexina é um exemplo de substância antifúngica que contribui para a resistência basal da planta a *B. cinerea* (VAN BAARLEN et al., 2007). Entretanto, algumas cepas de *B. cinerea* desenvolveram habilidade para neutralizar a camalexina, assim como a alfa-tomatina, composto antifúngico produzido no tomate (WAARD et al., 2006).

As vias de defesa mediadas pela sinalização de fitohormônios contribuem para a resistência basal contra *B. cinerea*. Mutantes de plantas com deleções de genes destas vias, apresentam aumento da suscetibilidade ao mofo cinzento (BIRKENBIHL; DIEZEL; SOMSSICH, 2012). Nesse mesmo estudo, os autores identificaram 30 genes que codificam para fatores de transcrição que foram altamente regulados pela infecção com *B. cinerea*. Assim como, mutantes de *Arabidopsis* que tiveram os genes dos fatores de transcrição R2R3MYB (biossíntese de fenilpropanóides), WRKY70 (defesa de patógenos, senescência e desenvolvimento de tricomas) (WINDRAM et al., 2012) silenciados apresentaram maior suscetibilidade ao ataque do patógeno (BIRKENBIHL; DIEZEL; SOMSSICH, 2012). A infecção de tomateiro e *Arabidopsis* com *B. cinerea* induziu a expressão de genes que codificam várias proteínas relacionadas com a defesa que são consideradas marcadoras das

vias de defesa regidas por ácido salicílico, etileno e jasmonato (THOMMA et al., 2001; ZANDER et al., 2010).

Como métodos de prevenção e controle do mofo cinzento, produtores utilizam com frequência a aplicação de fungicida, entretanto *B. cinerea* tem mostrado uma capacidade elevada de tolerar e adquirir resistência aos fungicidas (LEROCH et al., 2013) o que leva constantemente a necessidade de desenvolvimento de novos agentes químicos. Além do que, esta prática levanta a questão ecológica sobre o uso indevido de pesticidas que eleva o risco de resíduos químicos nos vegetais (RABOLLE et al., 2006). Nesta perspectiva vários métodos alternativos para o controle do mofo cinzento tem sido empregados, como o controle biológico, práticas de melhoramento vegetal envolvendo seleção e cruzamento entre cultivares, introdução de genes heterólogos com função de anti-patogenicidade e também melhoria dos mecanismos de defesa da planta mediante aplicação de estresses bióticos e abióticos (WILLIAMSON et al., 2007; XU et al., 2012; YANG et al., 2012).

2.5 Resistência induzida associada as PR-proteínas

A resistência de um hospedeiro, pode ser definida como a capacidade da planta em atrasar ou evitar a entrada e/ou a subsequente atividade de um patógeno em seus tecidos (BERGAMIN; KIMATI; AMORIM, 1995; BOLLER; HEE, 2009). Em fitopatologia, segundo Agrios (2005), assume-se que imunidade é regra e suscetibilidade exceção. Isso se deve ao fato dos mecanismos de defesa das plantas existirem em multiplicidade e serem extremamente eficientes.

O nível de resistência de um vegetal resulta do somatório das contribuições individuais dos diferentes mecanismos de defesa (GURURANI et al., 2012). A resistência natural de plantas, ou as barreiras pré-formadas (constitutivas) baseiam-se em fatores estruturais e bioquímicos já existentes, como por exemplo, parede celular, cutícula, estômatos, tricomas, metabólitos antifúngicos como catecol, ácido clorogênico, α -tomatina, avenacinas, tuliposídeos e enzimas líticas que hidrolisam os constituintes da parede celular dos fungos, como quitinases e β -1,3-glucanases (BERGAMIN; KIMATI; AMORIM, 1995; MITHOFER; BOLAND, 2012) independente da chegada do patógeno ou outro elicitor ao sítio de recepção. Embora a defesa constitutiva

possa contribuir para a resistência do hospedeiro, a maioria dos patógenos consegue ter acesso ao interior da planta, por isso novas barreiras estruturais e bioquímicas são formadas, como por exemplo agregações citoplasmáticas, halos, papilas, lignificação e produção de fitoalexinas como a rishitina, gossipol, faseolina, luteolinidina dentre outras (BOLLER; HEE, 2009; WALTERS; FOUNTAINE, 2009). Estas barreiras “pós-formadas” também podem ser produzidas em resposta a estresses abióticos, como luz ultravioleta e metais pesados. Em contraposição, plantas possuem outros mecanismos de defesa, ainda mais eficientes que segundo Silva; Pascholati e Bedendo (2007), aparentemente, permanecem inativos ou latentes e só são acionados após a exposição do vegetal a agentes de indução.

Diante disso, surgem os termos resistência adquirida e/ou resistência induzida, que inicialmente eram tratados como eventos diferentes (Fig. 8) (ROSS, 1966; VAN LOON, 1983). A primeira investigação da indução de resistência em plantas foi realizada por Ross (1966) que estudou o comportamento de plantas de tabaco frente a infecção com baixas doses do vírus do mosaico do tabaco (TMV). Ele observou a ocorrência de hipersensibilidade, resistência sistêmica nas demais partes da planta e uma redução do número de lesões após uma subsequente inoculação com TMV. Então diante disso, originou-se o termo “adquirida” que era referido quando algum microrganismo patogênico era o agente elicitador (biótico) e a via de sinalização celular ocorria através do ácido salicílico (MÉTRAUX, 2001). Enquanto o termo “induzida” foi empregado após a observação de que microrganismos não patogênicos e outros elicitores abióticos também poderiam desencadear respostas de resistência (VAN LOON, 1983; VAN LOON, 1999) e as vias de sinalização celular ocorriam pelo etileno e jasmonato (Fig. 7) (STICHER; MAUCHMANI 2001).

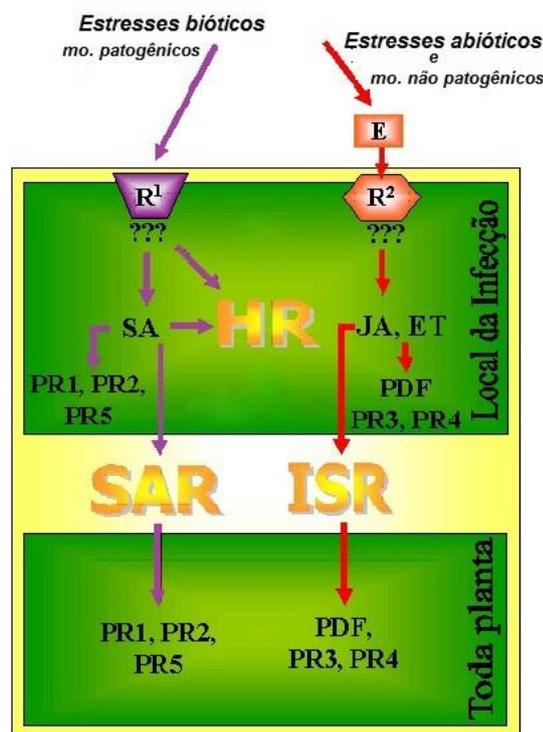


Figura 7 – Esquema ilustrando o conceito inicial de resistência induzida (ISR) e a resistência adquirida (SAR).

Fonte: EMBRAPA, 2009

Entretanto, diante da confusão que ocorria entre os termos adquirida e induzida e também ao fato de surgirem estudos demonstrando que ambos os agentes indutores bióticos e abióticos poderiam ativar as mesmas vias de sinalização com a síntese de PRs (proteínas relacionadas a patogênese) iguais ou diferentes, os termos passaram a ter o mesmo significado (WALTERS; FOUNTAINE, 2009; AMIL-RUIZ et al., 2011; LUNA et al., 2012). Portanto o termo resistência induzida ou adquirida podem ser conceituados como ativação de mecanismos latentes de resistência em plantas através da indução com agentes bióticos ou abióticos (SHORESH; HARMAMN; MASTOURI, 2010). A resistência induzida além de desencadear novas respostas anti-patogênicas que antes estavam latentes, pode também reforçar as barreiras pré-existentes da planta (MANOSALVA et al., 2010).

Nos últimos anos, têm-se tornado evidente que plantas, quando expostas a várias tensões ambientais, respondem através da síntese de um conjunto de proteínas específicas que são reguladas por diferentes moléculas sinalizadoras (HAMMERSCHMIDT, 2009; AMIL-RUIZ et al., 2011). As

observações de que o ácido salicílico (SA) aplicado exogenamente se acumula internamente e induz a reação têm proporcionado provas de que SA atua como uma molécula sinalizadora e necessária para o reforço da capacidade de defesa dos tecidos após o ataque de patógenos ou um estresse abiótico (BARI; JONES, 2009; MANOSALVA et al., 2010;). Outras moléculas também têm sido mencionadas como sinalizadoras na ativação de PRs como o etileno, ácido jasmônico, ácido abscísico e algumas espécies reativas de oxigênio (HAMMERSCHMIDT, 2009; VELLOSILO et al., 2010).

Neste contexto, respostas como o acúmulo de proteínas relacionadas à patogênese (PRs) e a reação de hipersensibilidade têm sido correlacionados e considerados fenômenos de resistência induzida (VELLOSILO et al., 2010; VERHAGE; VAN WEES; PIETERSE, 2010). A reação de hipersensibilidade (RH) mostra-se como uma resposta celular extrema por parte da planta, o que pode levar a um alto grau de resistência à doença. A RH resulta na morte repentina de um número limitado de células do hospedeiro que circundam os sítios de infecção, ou seja, uma necrose que isola e mata o patógeno (quanto presente) (MECLELLAN et al., 2009)

Outro evento marcador de resistência induzida é a presença de proteínas relacionadas à patogênese ou PR-proteínas em plantas, que são sintetizadas em situações de estresse, sendo que algumas estão presentes constitutivamente nos vegetais, como no caso das quitinases e β -1,3-glucanases (VAN LOON et al., 1994). Enzimas como fenilalanina amônia liase (PAL), polifenoloxidase (PPO) e peroxidase (PE) são muitas vezes referidas como PRs (VAN LOON, 1997).

As PRs mais caracterizadas atualmente são as de tomate e tabaco, mas alguns genes e isoformas destas proteínas estão sendo isoladas em morango e em outros frutos como pêra, maçã, amora, pimenta (CHARLES, et al, 2009; AMIL-RUIZ et al., 2011; SEBATER-JARA et al. 2011; POMBO et al., 2011). Estas PRs são as responsáveis pela característica de alergenicidade de muitos alimentos, que quando consumidos pelas pessoas alérgicas, resultam em um significativo aumento na reatividade e resposta ao antígeno/alergênico resultando em efeitos adversos à saúde (KATELARI, 2010; JIMENEZ-LOPEZ et al., 2012). Sabe-se que as PRs compreendem quatro famílias de quitinases (PR-3, PR-4, PR-8 e PR-11), uma de β -1,3-glucanases (PR-2); estas proteínas

degradam quitina e β -glicano da parede celular de fungos respectivamente (EBRAHIM; USHA; SINGH, 2011). As quitinases e glicanases possuem isoformas ácidas e básicas que parecem exercer a mesma função sendo a diferença entre elas, apenas a localização. As ácidas estão presentes nos espaços intercelulares e as básicas nos vacúolos, em uma indução inicial de resistência, as PRs ácidas são as primeiras ativadas, e caso essa defesa não seja suficiente, as PRs básicas são lançadas dos vacúolos como um reforço da defesa (CHARLES et al., 2009; AMIL-RUIZ et al., 2011). Em morango, estas proteínas foram induzidas por infecção com *Clostridium acutatum*, *C. fragariae* e *B. cinerea* (SHI et al., 2006), bem como com a aplicação de ácido salicílico e *etephon* (KHAN, 2002).

Outra família de proteínas PR se constitui das inibidoras de proteinases (PR-6), que têm sido implicadas na regulação endógena do volume de proteínas na célula, na defesa contra insetos e outros patógenos e ativas contra *B. cinerea* e *Fusarium oxysporum* (VAIN et al., 1998; GRAHAM et al., 2002). Proteínas da família PR-10, que também são conhecidas pelo nome de proteínas Bet v, foram primeiramente isoladas do pólen da árvore *Betula verusca*. Isoformas destas proteínas são encontradas nos mais diversos frutos (HJERNO et al., 2006; MUÑOZ et al., 2010). Elas são conhecidas por possuírem propriedades alergênicas nos seres humanos (KARLSSON et al., 2004) e nos vegetais elas atuam como ribonucleases, ou seja, agem na degradação do material genético de microrganismos invasores (PARK et al., 2004) e na biossíntese de antocianinas do morango (MUÑOZ et al., 2010). Guidarelli et al. (2011) demonstrou a indução de PR-10 em morango por infecção com *Clostridium acutatum* e estresse abiótico como a aplicação de ácido jasmônico. Entretanto, alguns autores mencionam as proteínas Bet v como constitutivas dos frutos, e outros autores como proteínas marcadoras de estresses, que só estão presentes após a indução de algum agente estressor (HJERNO et al., 2006; PARK et al., 2004).

As peroxidases, proteínas membros da família PR-9, parecem desempenhar papel no fortalecimento da parede celular. As osmotinas ou taumatinas (PR-5) possuem ação antifúngica (ZHANG, 2006) e são reguladas por ácido abscísico, ácido salicílico, ferimento mecânico (ZHANG e SHIH, 2007), estresse salino e hídrico. As proteínas da família PR-14 são as LTPs

(proteínas de transferência de lipídios) e assim como as PR-10 possuem propriedades alergênicas. As LTPs são relatadas também por apresentarem função específica defensiva contra bactérias e fungos (KIRUBAKARAN et al., 2008; SAROWAR et al., 2009) e responderem a tratamentos com ácido abscísico, ácido salicílico e ferimentos mecânicos (AMIL-RUIZ et al., 2011). Diante do exposto, percebe-se que as PRs formam um conjunto de proteínas anti-patogênicas e proteínas de estresses, marcadoras de resistência.

3 Material e Métodos

3.1 Material vegetal

O experimento foi realizado entre 25 de maio de 2011 e dezembro de 2012, em casa de vegetação (8 x 12 m) disposta no sentido norte-sul, revestida com filme de polietileno de baixa densidade (200 μm de espessura) (Fig. 8) As mudas de morangueiro, cultivar Camarosa, foram transplantadas em 25 de maio 2012, adotando exatamente o sistema de cultivo descrito por Portela et al. (2012). O espaçamento utilizado foi de 20 cm entre plantas nos canais de cultivo e 40 cm entre linhas, resultando em 12,5 plantas m^{-2} de área útil. A composição nutritiva utilizada foi exatamente aquela descrita por Sonneveld & Straver (1994), diluída para uma condutividade elétrica (CE) de 1,5 dS m^{-1} . A condutividade da solução de recirculação foi monitorada diariamente, empregando-se um eletrocondutivímetro digital Instrutherm CDR-870, assim como o pH foi mantido entre 5,5 e 6,5 com a adição de solução de KOH 1 mol/L ou H_2SO_4 1 mol/L, conforme o caso. Quando houve variação superior a 10% no valor da CE fez-se a reposição de nutrientes ou de água. A circulação da solução nutritiva foi feita por 15 minutos a cada 45 min totalizando 24 circulações diárias. Até 20 dias após o transplante todas as flores foram removidas de modo a proporcionar o bom crescimento vegetativo (formação de 5 a 7 folhas). A partir daí, realizaram-se as práticas culturais clássicas para o cultivo do morangueiro e, a partir da emissão dos primeiros botões florais, foram instaladas duas caixas de abelhas do tipo Jataí (*Tetragonisca angustula*), para a ocorrência da polinização.

Para a aplicação de UV-C utilizaram-se lâmpadas UV-C “Phillips®” 30 W. A distância entre as lâmpadas e a parte superior das plantas foi de aproximadamente 2 metros a intensidade da radiação emitida pelas lâmpadas foi quantificada com um medidor de luz UV digital (RS-232 Modelo MRUR-203, “Instrutherm”), resultando em uma intensidade de 3,7 kJ.m^{-2} por aplicação. A aplicação do tratamento ocorreu a partir do aparecimento das flores até a colheita dos morangos. Antes da aplicação da radiação UV-C, as caixas de abelhas eram fechadas, e às 19h00, durante 10 minutos, todos os dias, até o momento da colheita, aplicou-se a radiação. Desse delineamento originaram-se dois tratamentos: T1 – controle (sem aplicação de radiação UV-C); e, T2 –

aplicação de radiação UV-C. Essas condições de experimento foram estabelecidas com base em pesquisa exploratória realizada em dois anos anteriores (2010 e 2011).



Figura 8 – Cultivo de morangueiros cv. Camarosa em casa de vegetação. (A) – Sem radiação UV-C, (B) – Com radiação UV-C.



Figura 9 - Diferentes estádios fenológicos em que o morango foi submetido à radiação UV-C durante o cultivo.

A colheita dos frutos foi realizada quando os frutos apresentaram-se completamente avermelhados (último estágio à direita) (Fig. 9). As avaliações a seguir foram realizadas imediatamente após a colheita dos frutos.

3.2 Avaliações agronômicas

3.2.1 Produtividade

A produtividade foi quantificada mediante a pesagem de todos os frutos maduros colhidos de cada planta, determinando-se a produção em kg.planta^{-1} .

3.2.2 Peso médio dos frutos

Para a obtenção do peso médio dos frutos, cinco recipientes de cada tratamento contendo 14 frutos cada foi pesado. O valor do peso obtido para cada pesagem foi dividido pelo número total de frutos dos recipientes.

3.3 Avaliações físico-químicas dos frutos

3.3.1 Sólidos solúveis totais

Para a medida dos sólidos solúveis totais, foi utilizado refratômetro digital da marca Atago (0 a 32%) e os valores foram expressos em °Brix.

3.3.2 Acidez total titulável

Amostra de 10g de morangos foi adicionada de 90 mL de água destilada, homogeneizada e titulada com NaOH 0,1mol/L até pH 8,1. Os valores foram expressos em mg de ácido cítrico por 100 g de frutos.

3.3.3 Cor da epiderme

A coloração da epiderme dos frutos foi medida em colorímetro (Minolta Chromometer Modelo CR 300, D65, Osaka, Japan), com 8 mm de abertura no padrão CIE-L*a*b*. Para calcular o ângulo Hue (°Hue), que define a tonalidade de cor, usaram-se os valores de a* e b* ($^{\circ}\text{Hue} = \tan^{-1} b^*/a^*$). As medições foram realizadas em faces opostas de cada fruto.

3.3.4 Firmeza de polpa

A firmeza de polpa dos frutos foi medida utilizando texturometro (TA.XT *plus*®) com sonda de 2 mm, penetração de 50 % e velocidade de 1 mm s⁻¹.

Foram utilizados dez morangos de cada unidade experimental. Os resultados foram expressos em Newton (N).

3.4 Avaliações fitossanitárias

3.4.1 Contagem de microrganismos mesófilos

Para contagem de mesófilos totais, 25 gramas de polpa de frutos cultivados com e sem aplicação de UV-C foram amostrados imediatamente após a colheita e adicionados de 100 mL de água peptonada estéril. Um mL da solução foi inoculada em profundidade utilizando-se ágar PCA (ágar padrão para contagem). As placas foram incubadas a uma temperatura de 35 °C por 48 h. O resultado da contagem de mesófilos foi expresso em UFC.g⁻¹.

3.4.2 Incidência de podridões fúngicas

Primeiramente, cerca de 400g de morangos oriundos dos tratamentos com e sem UV-C foram acondicionados em 3 bandejas plásticas de polietileno abertas e armazenados em temperaturas de $\pm 23^{\circ}\text{C}$ e sob refrigeração $\pm 6^{\circ}\text{C}$ com ausência de luminosidade. A incidência de podridões fúngicas foi observada ao longo de três dias de armazenamento e expressa em percentual de frutos com incidência de podridões fúngicas.

Em um segundo momento, esporos de *Botrytis cinerea* foram coletados de morangos doentes, plaqueados em meio de cultura ágar batata dextrose (BDA) e incubados por 7 dias em sala de incubação com temperatura controlada. Assim que o crescimento micelial foi evidente, a placa foi inundada com água estéril contendo 0,02% (v/v) de Tween 20. A suspensão dos esporos foi filtrada, e após a contagem dos esporos em câmara de Neubauer, foi realizado uma diluição para uma concentração de 10^4 esporos por mL. Um volume de 20 μL da suspensão foi inoculado por meio de uma infecção, em 400g de morangos com e sem UV-C previamente desinfetados em solução de hipoclorito de sódio (100 ppm, pH 4,0) por 2 minutos. Os tratamentos foram realizados em triplicata. Após a inoculação, os frutos foram armazenados em ambiente com ausência de luz, e cobertos com durante 3 dias. Os resultados foram expressos em percentual de frutos com incidência de mofo cinzento.

3.4.3 *Western Blotting* de proteínas Bet v e β -1,3-glucanases

Para extração de proteínas de morango foi utilizado método adaptado de Pegoraro, (2010) o qual consiste na utilização de detergente aniônico (SDS) e agente redutor (β -Mercaptoetanol) presentes no tampão de corrida adicionado diretamente na amostra. Cerca de 0,5 g de morango macerado em nitrogênio líquido foi pesado em tubo tipo Eppendorf com adição de 500 μ L de tampão Laemmli 4x (250mM Tris-HCl pH 6,8, 8% SDS, 40% glicerol, 4% β – mercaptoetanol). Os tubos contendo a amostra e o tampão foram aquecidos em banho-maria a 90°C durante dez minutos e centrifugados a 12.000 g por 15 minutos. No sobrenadante coletado, foi adicionado 1mL de acetona a -20°C para precipitação das proteínas, o precipitado foi seco, pesado e solubilizado em NaOH 1N para a quantificação de proteínas pelo método de Bradford (1976). A eletroforese das proteínas foi realizada por SDS-PAGE em minigéis de poliacrilamida 10 cm x 8,5 cm (Mini-PROTEAN II Cell, Bio Rad), antes da corrida 20 μ L do precipitado resuspenso em tampão Laemmli 1x foi misturado com azul de bromofenol. Após a eletroforese, um dos géis foi colorido com Comassie Brilliant Blue G250, para verificar a eficiência da extração e o outro gel foi utilizado para a transferência das proteínas para membrana de nitrocelulose (Ge Healthcare). A eficiência da transferência foi monitorada pela coloração com corante Ponceau. A imonodeteção das proteínas foi realizada através da técnica de *western blotting*, utilizando anticorpos policlonais de pessoas alérgicas à proteínas Bet v (anti-Bet v) e anticorpos contra β -1,3-glucanases (anti-beta-1,3-glucanases). Esses anticorpos foram gentilmente cedidos por Li Zhenghuo (China).

3.5 Teor de fitoquímicos

3.5.1 Compostos fenólicos totais

O teor de compostos fenólicos totais foi determinado de acordo com o método adaptado de Swain e Hillis (1959). Para a extração, 5 g de polpa de morango foram adicionados de 15 mL de metanol e centrifugados a 14.000g uma temperatura de 4 °C por 15 minutos. Foram retirados do sobrenadante 15

μL e neste volume, adicionado 235 μl de metanol, 4 mL de água deionizada e 250 μL de Folin-Ciocalteu. Após 3 minutos, a solução foi neutralizada com 500 μL de uma solução de carbonato de sódio e mantida no escuro por 2 h. A leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro a 725 nm. Os resultados foram expressos em mg de equivalentes de ácido gálico por 100 g de fruta fresca.

3.5.2 Antocianinas totais

O teor de antocianinas totais foi determinado através de espectrofotometria, de acordo com método adaptado de Lees e Francis (1972). Cinco gramas de morango macerado foi adicionado de 15 ml de etanol acidificado (0,01% HCl) e centrifugados a 14.000 g em temperatura de 4 °C por 15 minutos. Do sobrenadante, foi retirado 1 mL e adicionado de 11,5 mL de etanol acidificado. As amostras foram mantidas no escuro por 30 minutos e então as leituras foram realizadas em espectrofotômetro em comprimento de onda de 520 nm. O teor de antocianinas foi expresso em mg de cianidina-3-glucoside por 100 g de fruta fresca.

3.5.3 Carotenoides totais

Para determinação do teor de carotenoides totais foi utilizado método adaptado de Rodriguez-Amaya (1999). Cinco gramas de morango triturado foi adicionado e misturado com duas gramas de celite e após a formação de uma massa homogênea, 20 mL de acetona foi adicionado e misturado durante dez minutos. A amostra foi filtrada e transferida para um funil de separação, acrescentada de éter de petróleo e água. A fase inferior foi descartada e a lavagem com água destilada foi realizada até a remoção total da acetona. O extrato obtido foi transferido para um balão volumétrico com o auxílio de funil e avolumado com éter de petróleo. A leitura da absorbância foi realizada no comprimento de 450 nm. O teor de carotenoides foi expresso em mg de β -caroteno por grama de fruta fresca.

3.5.4 Determinação de ácido ascórbico

A determinação de ácido ascórbico (AA) foi realizada por método titulométrico. Foram adicionados 25 mL de suco extraído de morango em 25

mL do ácido metafosfórico acético, 2 mL desta solução foi adicionada de 5 mL de ácido metafosfórico acético, titulou-se com solução de 2,6-diclorofenolindofenol (DCFI), e os resultados foram expressos em mg de ácido ascórbico por 100g de fruta fresca.

3.5.5 Atividade antioxidante

A atividade antioxidante foi determinada utilizando o método baseado na captura do radical DPPH conforme Fetter et al. (2010). A extração realizada foi igual àquela utilizada para os compostos fenólicos, sendo retirados 20 µl do sobrenadante, aos quais foram misturados com 180 µl de metanol (P.A.) e 3.8 mL de DPPH diluído. Após 24 horas foi realizada a leitura em espectrofotômetro a 515 nm. Os resultados foram expressos em µg equivalente de trolox por grama de fruta fresca.

3.6 Atividade da fenilalanina amônia liase (PAL E.C 4.3.1.24).

A PAL foi determinada através dos procedimentos descritos por Civello et al. (1997), a partir da produção de cinamato, após 1 h a 36 °C, sob agitação contínua, medida pela variação da absorbância a 290nm. A atividade enzimática foi expressa em mmoles de ácido cinâmico. min⁻¹.g⁻¹.

3.7 Análise estatística dos dados

Os dados foram submetidos à análise de homocedasticidade, pelo teste de Hartley, e ao teste de normalidade por Shapiro Wilk. Após o cumprimento dos pressupostos os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias analisadas pelo teste T com significância de $p \leq 0,05$.

4. Resultados

A aplicação da radiação UV-C durante o cultivo do morangueiros, diminuiu a produtividade de frutos por planta bem como a massa média dos frutos, além de menor acúmulo de sólidos solúveis, no entanto verificou-se uma melhor evolução da coloração, representada pelo menor ângulo Hue^o (tab. 1). Em relação à firmeza de polpa e acidez não foi observado diferença significativa entre os tratamentos (tab. 1).

Tabela 1 – Produtividade, e análises físico-químicas de morangos tratados com e sem radiação UV-C durante o cultivo.

Trat.	Prod. Kg.plant. ⁻¹	Massa g.frut. ⁻¹	Brix ^o	pH	Cor (Hue ^o)	Acidez (mg ác. cítrico.100 g frut. ⁻¹)	Firmeza de polpa (N)
Sem UV-C	3,4	30a	5,6a	3,3a	32,3 a	7,5 a	3,45a
Com UV-C	1,3	16b	5,1b	3,3a	30,2 b	8,0 a	3,48a

*Médias seguidas por letra distinta na mesma coluna diferem entre si pelo teste t ($p \leq 0,05$).

Em relação à contagem de mesófilos totais detectou-se menor carga microbiana nos frutos tratados com radiação UV-C em relação aos frutos não tratados (Fig. 10). Nos meios de cultura (Fig. 10) foi possível verificar maior crescimento fúngico em frutos sem aplicação de radiação UV-C durante o cultivo.

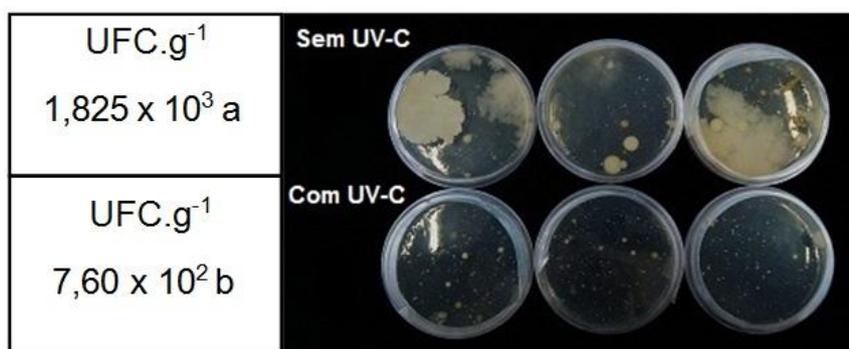


Figura 10 – Contagem de mesófilos totais da superfície de morangos cv. Camarosa cultivados com e sem aplicação de radiação UV-C. Médias diferem entre si pelo teste t ($p \leq 0,05$).

Quanto à incidência de podridões fúngicas, os frutos foram avaliados visualmente durante 3 dias de armazenamento a ± 23 °C (Fig. 11). Foi observado diferença significativa entre os tratamentos. Após o segundo dia de armazenamento a ± 23 °C foi verificado um percentual de 6,9% e 21,4% de incidência de mofo branco em morangos tratados com e sem UV-C respectivamente (Fig. 11). Após o terceiro dia de armazenamento, foi observado elevada incidência de mofo cinzento, com percentuais de 45,8% em frutos com UV-C e 70% em frutos sem aplicação de UV-C (Fig. 11). A incidência do mofo branco não evoluiu do segundo para o terceiro dia de armazenamento.

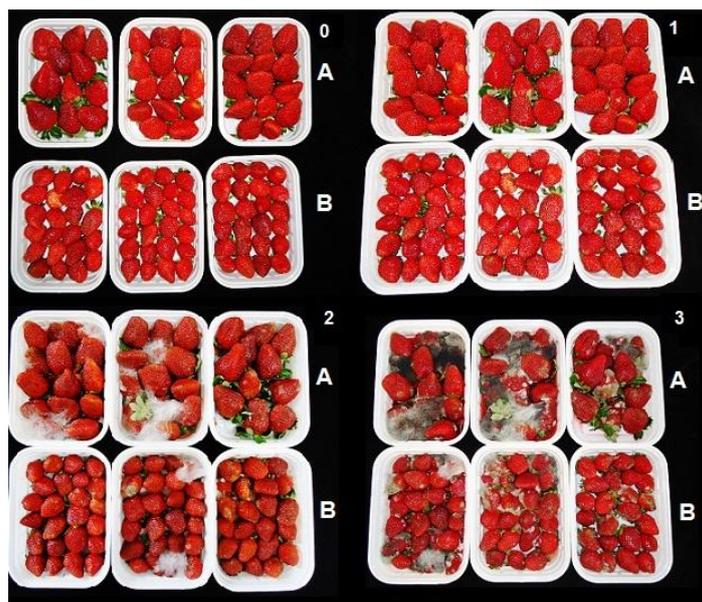


Figura 11 – Incidência de podridões fúngicas em morangos cv. Camarosa armazenados durante 3 dias a $\pm 23^{\circ}\text{C}$ na ausência de luz. A – Sem UV-C, B – Com UV-C.

Em relação à incidência de mofo cinzento após a inoculação com *Botrytis cinerea* (Fig. 12) não se observou diferença entre os tratamentos, ambos apresentaram elevada incidência da doença após o terceiro dia de armazenamento, com percentuais de 84,6% e 85% em morangos tratados e não tratados com UV-C respectivamente.



Figura 12 – Incidência de mofo cinzento após inoculação com *Botrytis cinerea*, ao longo de três dias de armazenamento a $\pm 23^{\circ}\text{C}$. A – Sem UV-C, B – Com UV-C.

Proteínas Bet v foram detectadas em maiores níveis nos morangos tratados com radiação UV-C durante o cultivo (Fig. 13A). As proteínas β -1,3-glicanases, foram detectadas em níveis semelhantes em morangos com e sem radiação UV-C (Fig. 13B).

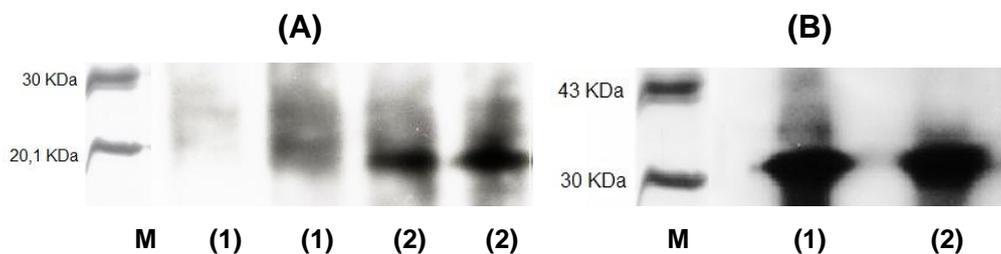


Figura 13 – (A) - *Western blotting* de proteínas Bet v em extratos proteicos de morangos sem UV-C (1) e com UV-C (2). (B) *Western blotting* de proteínas β -1,3-glicanases em extratos proteicos de morangos sem UV-C (1) e com UV-C (2)

Houve aumento da atividade da enzima PAL nos frutos tratados com radiação UV-C, o acréscimo foi de 29% em relação aos frutos não tratados (Fig. 14A). O teor dos compostos fitoquímicos nos frutos tratados com radiação UV-C durante o cultivo também aumentaram. Houve um acréscimo de 28% no teor de antocianinas (Fig. 14B), 72% no teor de compostos fenólicos (Fig. 14C), 53% no teor de carotenoides (Fig. 14D) e 15% no teor de ácido ascórbico (Fig. 14E). O aumento da atividade antioxidante também foi observado (Fig. 14F), havendo um acréscimo de 13% nos frutos cultivados com radiação UV-C.

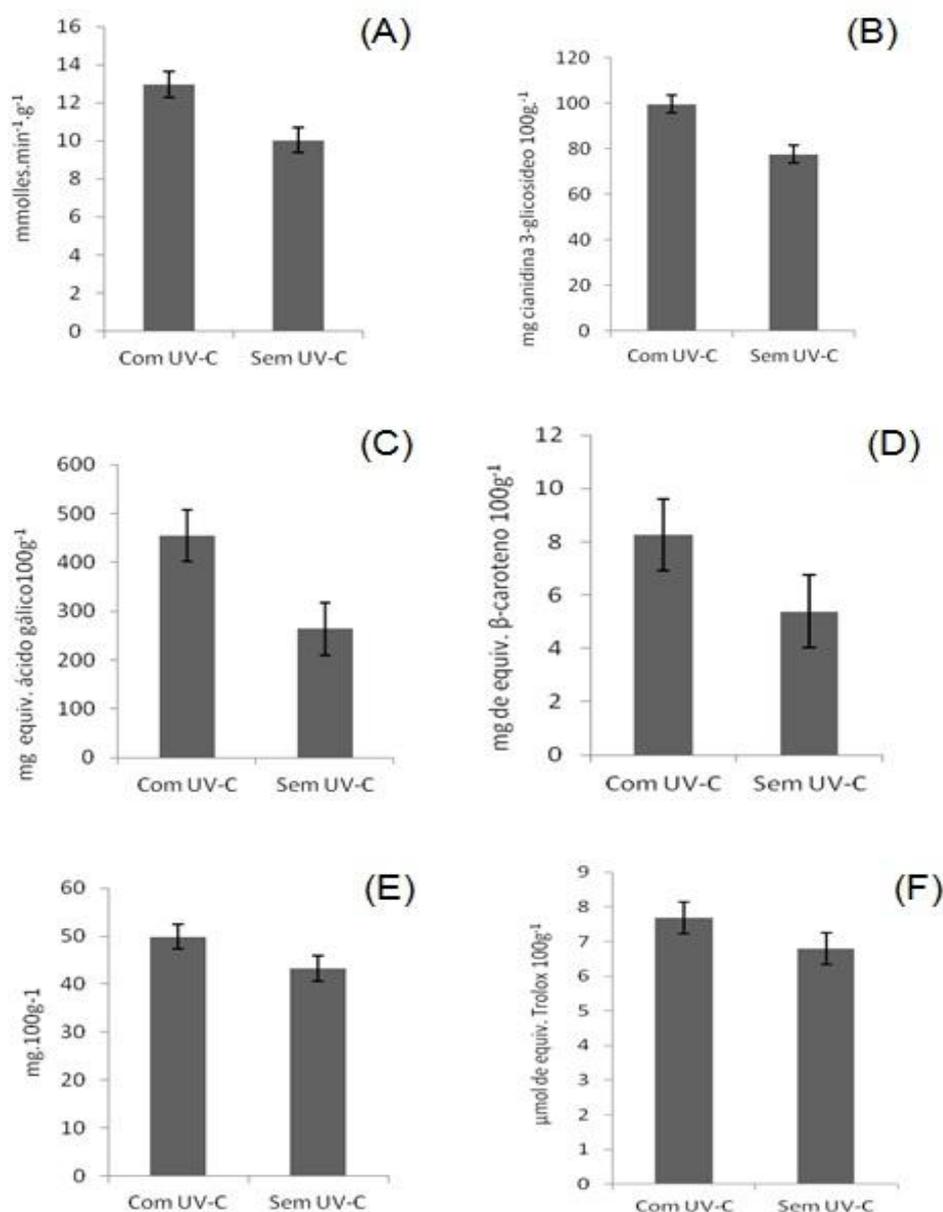


Figura 14 – Atividade enzimática da PAL (A), antocianinas totais (B), compostos fenólicos totais (C), carotenóides (D), ácido ascórbico (E) e atividade antioxidante (F) em morangos cv. Cmarosa tratados e não tratados com UV-C durante o cultivo. Médias diferem entre si pelo teste t ($p \leq 0,05$).

4. Discussão

Existem poucos relatos na literatura científica relacionando respostas tecnológicas, bioquímico-fisiológicas e fitossanitárias sobre a aplicação de radiação UV-C durante o cultivo de vegetais. Diante disso não há

conhecimento elucidado de como espécies frutícolas se comportam em relação à produtividade, e à qualidade dos frutos quanto à maturação, ao teor de fitoquímicos, à atividade antioxidante e à resistência a fitopatias. A maioria dos estudos, relatam respostas frente à aplicação de radiação UV-C na pós-colheita de frutos e hortaliças (SHAMA & ALDERSON, 2005; LÓPEZ-MALO E PALOU, 2005; ERKAN, et al., 2008; POMBO et al., 2011). Por esse motivo, diferentemente desses trabalhos, nesta dissertação, utilizou-se esse agente estressor durante todo o ciclo de cultivo e produção dos frutos.

Em relação às características agronômicas (Tabela 1) se pode observar que a produtividade e a massa média de morangos cultivados com UV-C diminuíram. É sabido que as plantas, quando expostas a estresses bióticos e abióticos, precisam desenvolver mecanismos de adaptação (RAMAKARISHNA; RAVISHANKAR, 2011). Esses mecanismos envolvem uma reprogramação celular para o desenvolvimento de respostas moleculares, bioquímico-fisiológicas, que segundo Rhoades et al., (1992) aumentam o gasto de energia da planta, o que pode influenciar na produtividade dos frutos. A radiação UV-C também pode ter causado dano oxidativo nos fotossistemas e nos pigmentos que captam luz durante a fotossíntese (KOVÁCS; KERESZTES, 2002; GONÇALVES et al., 2007; SILVA et al., 2011) afetando negativamente no metabolismo primário. Sabe-se que quando as plantas são submetidas a condições de estresse, espécies reativas de oxigênio (ROS) são geradas (GILL; TUTEJA, 2010; LEMOINE; CHAVES; MARTÍNEZ, 2010). As ROS são moléculas sinalizadoras que desencadeiam modificação na expressão e metabolismo de genes de modo que o vegetal possa responder a condições ambientais adversas (SAXENA et al., 2012). Desse modo, é possível que nesse trabalho, a produção de ROS tenha ultrapassado a capacidade de defesa do sistema antioxidante da planta alterando o aparato fotossintético. Rai et al., (2011) observaram alterações morfológicas como diminuição da área foliar, diminuição de clorofilas e redução de biomassa ao aplicar radiação UV-C em plantas de *Artemisia*. Entretanto o teor de flavonóides e o metabólito artemisina que era alvo do estudo aumentaram com a aplicação da radiação. Silva et al., (2011) aplicaram radiação UV-C em plantas de *Glicine max* e observaram danos fotoinibitórios no fotossistema II, o que segundo Suza et al., (2005) pode gerar menor poder redutor (NADPH) para a fase bioquímica da

fotossíntese e diminuir as taxas de fixação de carbono, que por sua vez influenciam em todos os processos metabólicos da planta. Entretanto, a produção de ROS e os parâmetros fotossintéticos necessitam ser avaliados para a confirmação da hipótese. Trabalhos nesse sentido estão sendo realizados.

Em relação às características físico-químicas (Tabela 1) pode-se observar que em ambos os tratamentos, o valor do °Brix ficou abaixo do que é citado na literatura (7° a 8° Brix) para morangos maduros (GARCÍA; HERRERA; MORILLA, 1996). Além disso, os frutos de plantas tratadas com UV-C apresentaram menor °Brix em relação aos frutos controle. Uma vez que o °Brix fornece uma estimativa do teor de açúcares solúveis do fruto (MACKENZIE et al., 2011), pode-se observar que morangos tratados com UV-C apresentaram menor acúmulo desses compostos, talvez em decorrência da menor taxa fotossintética. Outra hipótese é de que os frutos poderiam estar em estágio menos avançado de maturação em relação aos frutos não tratados. No entanto, os frutos apresentavam uma coloração totalmente avermelhada. Obanda; Tucker; Shama (2011); Stevens et al., (2004); Barka et al., (2000) observaram retardo na maturação de tomates submetidos a radiação UV-C na pós-colheita, entretanto nestes estudos o atraso na maturação foi relacionado com o atraso na passagem da coloração verde para vermelha e na maior firmeza de polpa dos frutos. Neste estudo a maturação do morango parece estar relacionada com o teor de açúcares, pois a firmeza de polpa não foi alterada e a coloração da superfície dos frutos apresentou menor ângulo Hue (tabela 1), que de acordo com Severo et al., (2001) diminui com o aumento da maturação do morango.

Em relação à contagem de mesófilos totais (Fig. 10) se pode observar uma menor carga microbiana na superfície dos morangos tratados com radiação UV-C em relação aos não tratados. Como já se sabe, a radiação UV-C possui elevado poder germicida (GÓMEZ et al., 2010; MANZOCCO et al., 2011; CORRALES et al., 2012), tendo como alvo principal o material genético (DNA/RNA) de bactérias, fungos e vírus. A radiação UV-C possui fraca penetração em produtos alimentares. Por essa razão ela é particularmente utilizada para o tratamento onde as atividades microbianas e enzimáticas ocorrem, sobretudo na superfície dos alimentos (ESCALONA et al., 2010;

MANZOCCO et al., 2011). Porém, em vegetais pode haver alterações metabólicas, uma vez que na superfície, estão expostos os pigmentos que realizam a captação de luz para a fotossíntese.

Quanto à incidência de podridões fúngicas (Fig. 11) os morangos tratados com radiação UV-C apresentaram menor incidência ao longo de três dias de armazenamento em temperatura ambiente em comparação aos frutos não tratados. Esse resultado pode estar associado aos elevados teores de metabólitos secundários, a atividade enzimática da PAL bem como o teor de proteínas Bet v apresentados pelos frutos tratados com UV-C. Supostamente, esses mecanismos podem estar atuando na defesa vegetal, entretanto, a evidência de que a radiação UV-C diminui a carga microbiana nos frutos, levamos a acreditar que a menor incidência de podridões fúngicas ocorreu principalmente devido à ação germicida desta radiação. Pois após a inoculação do fungo *Botrytis cinerea*, não se observa diferença significativa entre os tratamentos (Fig. 12). Esse resultado, se contrapõem ao obtido por Charles; Goulet; Arul (2008), que observaram aumento de resistência à *Botrytis cinerea* em tomates tratados com UV-C na pós-colheita. No entanto, a inoculação do fungo *B. cinerea* foi realizada na cicatriz da haste do tomate, que segundo os autores, evitou a interferência nos resultados (CHARLES; GOULET; ARUL, 2008).

Em nosso estudo a intensidade do estresse causado pela radiação UV-C, e a inoculação de esporos de *Botrytis cinerea*, por meio de uma infecção podem ter suplantado a capacidade de defesa dos frutos. Segundo Xia et al. (2009) o requisito cuticular foi essencial para a resistência de *Arabidopsis* à infecção por fungos, segundo os autores, a presença de uma proteína transportadora (ACP4) na cutícula do vegetal foi necessária para a percepção do patógeno na superfície do fruto.

Em relação às PR-proteínas se pode observar que as proteínas Bet v estão em maiores níveis nos frutos tratados com radiação UV-C (Fig. 13 A). A presença de PR-proteínas como as da família PR-10 (Bet v) é um evento indicador de resistência induzida (VAN LOON et al., 1994), mas essas proteínas podem exercer outras funções nas plantas além da defesa a patógenos que ainda não estão bem elucidadas (MUÑOZ et al., 2010). Proteínas da família PR-10 ou Bet v, foram primeiramente isoladas do pólen da

árvore de *Bétula verusca*, de onde deriva a nomenclatura Bet v. Alguns autores (PARK et al., 2004; YANG et al., 2012) têm encontrado isoformas dessas proteínas nos mais diversos frutos. Assim como as demais PR-proteínas, as Bet v são conhecidas por serem alergênicas, podendo causar uma reação excessiva do sistema imunitário humano (KARLSSON et al., 2004; YANG et al., 2012). Nos vegetais elas têm sido mencionadas por atuarem como ribonucleases, agindo na degradação do material genético de microrganismos invasores (PARK et al., 2004), e mais recentemente uma função biológica na biossíntese de antocianinas do morango tem sido proposta (HJERNO et al., 2006; MUÑOZ et al., 2010). No estudo realizado por Park et al., (2004), foi observado maiores níveis de proteínas PR-10 em pimentas após tratamentos com etileno, metil jasmonato, NaCl e infecção com TMV (vírus do mosaico do tabaco). Guidarelli et al., (2011) demonstrou aumento de PR-10 em morango por infecção com *Clostridium acutatum* e estresse abiótico como a aplicação de ácido jasmônico. Mur et al., (2004) observaram aumento de transcrição do gene que codifica para PR-10 mediante aplicação de peróxido de hidrogênio, e estresse oxidativo. Em maçã e tomate as PR-10 têm sido detectadas constitutivamente e a presença, bem como, a quantidade destas proteínas têm sido influenciadas pela cultivar, estágio de maturação, e nível de etileno (BRENNAN et al., 2004; KITAGAWA et al., 2000; YANG et al., 2012). Mutantes de *Arabidopsis* contendo receptores de etileno ETR1 e ETR4 têm mostrado acumular proteínas relacionadas a patogênese como PR-10 e PR-5 e a redução da incidência de patógenos foi correlacionada com este evento (PANTELIDES et al., 2010).

No caso das β -1,3-glucanases, era esperado que ocorresse um aumento nos níveis dessas proteínas nos morangos tratados com UV-C durante o cultivo, mas não houve diferença entre os tratamentos (Fig. 13B). Este resultado diverge dos resultados obtidos por Kan, (2002); Chi et al., (2006); Charles et al., (2009) e Pombo et al., (2001), que observaram aumento de β -1,3-glucanases em frutos e essa resposta foi mencionada como a principal causa para o aumento de resistência à *Botrytis cinerea*. No entanto, diferentemente neste estudo o estresse ocorreu na pós-colheita dos vegetais.

Em contraposição, Curvers et al., (2010); Osório et al., (2008); Lionetti et al., (2007) e Galletti; Ferrari; De Lorenzo (2011); Osório et al., (2011)

sugerem que para a ocorrência da indução da resposta de defesa a patógenos em morango, é necessário que a pectina da parede celular do fruto esteja com um grau de metilação reduzido. Eles observaram que a parcial desmetilação dos oligogalacturonídeos, ativaram a via de sinalização do ácido salicílico, estimulando a síntese de proteínas tipo taumatinas com ação anti-fúngica. Isto deixa implícito que a indução de resistência em morango depende mais do processo de degradação da parede celular do fruto, para gerar uma sinalização interna. O que não ocorreu neste trabalho, pois os frutos tratados com UV-C continuam firmes.

Em relação ao teor de fitoquímicos (Fig. 14) o esperado era que as plantas tratadas com radiação UV-C produzissem frutos mais ricos em metabólitos secundários como uma resposta de adaptação ao estresse (ERKAN, 2008; KEUTGEN; RAMAKRISHNA.; RAVISHANKAR, 2011). Essa hipótese foi confirmada, pois como pode ser observado os frutos tratados com radiação UV-C apresentaram maior teor de antocianinas, os principais pigmentos do morango (SILVA et al., 2007; CAMPO-CRECENTE et al., 2012) (Fig. 14B). Severo, 2011 observou aumento do transcrito do gene ANS (antocianidina sintase) da biossíntese de antocianinas, bem como maior teor desses compostos com a aplicação de radiação UV-C na pós-colheita de morangos, e o mesmo deve ter ocorrido nos morangos tratados com UV-C no cultivo.

À semelhança do que ocorreu com antocianinas totais, o teor de compostos fenólicos totais também foi maior nos frutos tratados com UV-C (Fig. 14C). É amplamente documentado que estresses aplicados em vegetais, como variações de temperatura, anoxia (WONG, et al 2010), falta de água (ZUSHI & MATSUZOE, 2007), altas concentrações salinas (KEUTGEN & PAWELZIK, 2008), dentre outros, podem promover aumento no teor de compostos fenólicos. Desse modo, o aumento nos teores de carotenoides (Fig. 14D), ácido ascórbico (Fig. 14E), atividade antioxidante (fig. 14F) e atividade enzimática da PAL (Fig. 14A), pode ser atribuído à ação da radiação UV-C como agente estressor induzindo mecanismos de defesa e adaptação da planta e do fruto. Pombo et al, (2011) observaram que o tratamento com UV-C aplicado na pós-colheita de morango induziu o acúmulo de transcritos do gene da PAL, com consequente aumento da atividade enzimática e o acúmulo de

compostos fenólicos. De Wit, (2007) sugere que o aumento no teor de compostos fenólicos é uma forma de proteção que as células demonstram frente à aplicação da radiação UV-C. O mesmo ocorreu neste caso, mas com a radiação aplicada durante o cultivo dos frutos.

O teor de ácido L-ascórbico também aumentou com a aplicação de radiação UV-C durante o cultivo dos morangos (Fig. 14E). O ácido ascórbico ainda não tem sua via de biossíntese totalmente elucidada, mas sabe-se que um dos seus precursores é o ácido D-galacturônico, resultante da solubilização das pectinas da parede celular (AGIUS et al., 2003). Desta forma, o aumento de ácido ascórbico poderia estar relacionado com uma diminuição na firmeza de polpa dos frutos. Entretanto, neste estudo, não houve diferença na firmeza de polpa dos morangos provenientes dos dois tratamentos. O menor teor de sólidos solúveis nos morangos tratados com radiação UV-C pode estar relacionado com o aumento no teor de ácido ascórbico, uma vez que a D-glicose e a D-galactose são uns dos principais precursores do ácido ascórbico (GIBSON et al., 2008; CRUZ-RUZ et al., 2011). Além disso, como uma resposta de adaptação ao estresse, as plantas realizam uma reciclagem de ácido ascórbico (STEVENS et al., 2008). A enzima ascorbato peroxidase (APX), utiliza duas moléculas de ácido ascórbico para reduzir peróxido de hidrogênio à água, gerando duas moléculas de monodehidroascorbato (MDHA) como sub-produtos. MDHA é reduzido de volta para ácido ascórbico pela enzima monodehidroascorbato redutase (MDHAR), utilizando NADH/NADPH como doadores de elétrons. Dehidroascorbato (DHA) também é reduzido para ácido ascórbico através da enzima dehidroascorbato redutase utilizando glutatona reduzida como um composto redutor. Portanto, a reciclagem de ácido ascórbico também pode ocorrer na planta como tolerância a estresses oxidativos (ELTAYEB et al., 2006).

Frente ao exposto, ficou evidente a radiação UV-C causa uma redução da carga microbiana dos frutos, assim como uma menor incidência de podridões fúngicas. No entanto, a diminuição da produtividade, peso dos frutos e aumento do acúmulo de proteínas Bet v, que são conhecidas pelo potencial alergênico também foram observados. A atividade da enzima PAL, bem como o teor de compostos fenólicos e antocianinas foram maiores. A acumulação de ácido L-ascórbico, carotenóides e capacidade antioxidante também aumentou.

5. Considerações finais

O tratamento com radiação UV-C em morangueiros, diminuiu a produtividade e tamanho dos frutos. Quanto à maturação, diminuiu o teor de açúcares ($^{\circ}$ Brix), mas aumentou o teor de antocianinas, bem como a coloração dos morangos (Hue $^{\circ}$). Os frutos apresentaram menor incidência de podridões fúngicas, quando colhidos e armazenados em temperatura ambiente. A causa exata desse resultado, deve ser melhor investigada, pois a radiação UV-C exerceu função germicida nos frutos, mas também induziu proteínas Bet v que são mencionadas por atuarem no sistema de defesa vegetal.

Quanto ao metabolismo especializado, pode-se perceber que a radiação UV-C aumentou o teor dos principais compostos responsáveis pelo potencial antioxidante dos frutos, como fenóis, antocianinas e ácido ascórbico. Essa característica torna-se desejável sob o ponto de vista de alimentação funcional, frente aos inúmeros trabalhos que demonstram os benefícios do consumo de alimentos com elevada capacidade antioxidante. Entretanto, sob o ponto de vista, nutricional há de se considerar que o tratamento aumentou o teor de proteínas Bet v, que são consideradas um dos principais grupos de alérgenos alimentares. Portanto, antes da utilização desse tratamento como uma tecnologia para o cultivo de morangueiros, deve-se levar em consideração os aspectos agrônômicos, metabólicos e de qualidade dos frutos produzidos com o tratamento da radiação UV-C. Para esclarecimento e aprofundamento dos estudos sugere-se realizar:

- ✓ Expressão dos genes da via de biossíntese de hormônios vegetais, bem como a quantificação por cromatografia de auxinas (FaYUC2), etileno (ACS e ACO) ácido abscísico (FaNCED e FAPYR1) e poliaminas (arginase e ornitina carbamoiltransferase).
- ✓ Expressão dos genes da biossíntese de açúcares (sacarose sintase, ADP glicose pirofosforilase e frutose-1,6-bifosfatase) e quantificação por HPLC.
- ✓ Expressão dos genes das vias de biossíntese de compostos fenólicos, antocianinas (fenilalanina-amônia-liase, chalcona sintase, antocianidina sintase e fator de transcrição MYB), ácido ascórbico (L-galactose desidrogenase, L-

galactona-1,4-lactona desidrogenase e quantificá-los individualmente por HPLC.

- ✓ Quantificar espécies reativas de oxigênio (ROS) e expressão dos genes ascorbato redutase, superóxido dismutase e catalase.
- ✓ Realizar a expressão de transcritos dos genes que codificam para proteínas taumatinas, LTPs, quitinases, uma vez que essas proteínas apresentam potencial alergênico. Realizar imunodeteção em frutos em diferentes estádios de maturação, aplicar diferentes tratamentos como, UV-C, etileno, ABA, MCP, armazenamento refrigerado e outros visando elucidar fatores que causam aumento ou diminuição dos níveis.
- ✓ Em relação ao aroma dos morangos, quantificar os principais ésteres voláteis e realizar a expressão gênica das enzimas envolvidas em sua síntese como a álcool desidrogenase (ADH) e álcool acetil transferase (AAT)

6. Agradecimentos

Ao CNPq e à Fapergs pelo auxílio à pesquisa, e à Capes e ao CNPq pela concessão de bolsas.

7. Referências

AABY, K.; EKEBERG, D.; SKREDE, G. Characterization of phenolic compounds in strawberry (*Fragaria x ananassa*) fruits by different HPLC detectors and contribution of individual compounds to total antioxidant capacity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Los Angeles, v.55, n.11, p.4395-4406, 2007.

AABY, K.; MAZUR, S.; NES, A.; SKREDE, G. Phenolic compounds in strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) fruits: Composition in 27 cultivars and changes during ripening. **Food Chemistry**, v. 132, p.86-97, 2012.

AMBRÓSIO, C. L. B.; CAMPOS, F. A. C. S.; FARO, C. P. Carotenóides como alternativa contra a hipovitaminose A. **Revista Nutrição**. v.19, n.2, p. 233-243, 2006.

AMIL-RUIZ, F.; BLANCO-PORTALES, R.; MUÑOZ-BLANCO, J.; CABALLERO, J. L. The Strawberry Plant Defense Mechanism: A Molecular Review. **Plant Cell Physiology**. n. 52, v.11, p.1873-190, 2011.

ARAUJO, V. F. Utilização de subprodutos de xisto na produção e qualidade de morangos. 2011. 93 f. **Dissertação** (Mestrado)- Programa de Pós-Graduação em Agronomia. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas-RS.

ASARD, H.; MAY, J.M.; SMIRNOFF, N. Ascorbate as an antioxidant. In: BUETTNER, G.R.; SCHAFER, F.Q. **Vitamin C – Functions and Biochemistry in animals and Plants**, London: Taylor & Francis Group, p.173-188, 2004.

ASSELBERGH, B.; CURVERS, K.; FRANCKX, S.C.; AUDENAERT, K.; VUYLSTEKE, M.; BREUSEGEM, F. V.; HOFTE, M. Resistance to *Botrytis cinerea* in sitiens, an Abscisic acid-deficient tomato mutant, involves timely production of hydrogen peroxide and cell wall modifications in the epidermis. **Plant Physiology**. v.144, p.1863-1877, 2007.

AZEVEDO, H. A. Q. P. 2005 Contributions to the study of the Pinus pinaster-Botrytis cinerea interaction. 249f. **Tese de Doutorado**, Escola de Ciências da Universidade do Minho, Doutor em Ciências (Biologia). Braga-Portugal.

AZZINI, E.; VITAGLIONE, P.; INTORRE, F.; NAPOLITANO, A.; DURAZZO, A.; FODDAI, M.S.; FUMAGALLI, A.; CATASTA, G.; ROSSI, L.; VENNERRIA, E.; RAGUZZINI, A.; PALOMBA, L.; FOGLIANO, V.; MAIANI, G. Bioavailability of strawberry antioxidants in human subjects. **British Journal of Nutrition**. v. 104, p. 1165-1173, 2010.

BARI, R.; JONATHAN, E.; JONES, D.G. Role of plant hormones in plant responses. **Plant Molecular Biology**. v. 69, p. 473-488, 2009.

BERGAMIN F.; KIMATI, H.; AMORIM, L. **Manual de Fitopatologia: Princípios e Conceitos**. São Paulo: Agronômica Ceres. 3ªed. p.919, 1995.

BESSIRE, M.; CHASSOT, C.; JACQUAT, A.; HUMPHRY, M.; BOREL, S.; PETETOT, J. M.; MÉTRAUX, J.; NAWRATH, C. A permeable cuticle in *Arabidopsis* leads to a strong resistance to *Botrytis cinerea*. **European Molecular Biology**. v. 26, p. 2158 – 2168, 2007.

BIRKENBIHL, R. P.; DIEZEL, C.; SOMSSICH, I. E. *Arabidopsis* WRKY₃₃ is key transcriptional regulator of hormonal and metabolic responses toward *Botrytis cinerea* infection. **Plant Physiology**. v. 159, p. 266-285, 2012.

BOLLER, T.; YANG HE, S. Innate immunity in plants: an arms between pattern recognition receptors in plants and effectors in microbial pathogens. **Science**. v. 324, n. 5928, p. 742-744, 2009.

BOYCE, K. J.; HYNES, M. J.; ANDRIANOPOULOS, A. The Ras and Rho GTPases genetically interact to co-ordinately regulated cell polarity during development in *Penicillium marneffeii*. **Molecular Microbiology**. v. 55, p. 1487-1501, 2005.

BRITO, N.; ESPINO, J. J.; GONZALES, C. The endo- β -1,4-xylanase Xyn11A is required for virulence in *Botrytis cinerea*. **Molecular. Plant–Microbe Interaction** v.19, p.25–32, 2006.

BUENDIA, B.; GIL, M. I.; TUDELA, J. A.; GADY, A. L.; MEDINA, J. J.; SORIA, C. HPLC–MS analysis of proanthocyanidin oligomers and other phenolics in strawberry cultivars. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 58, n. 7, p.3916–3926, 2010.

CANTILLANO, R. F.F E SILVA, M. M.. **Manuseio pós-colheita de morangos – Pelotas: Embrapa Clima Temperado, (Embrapa Clima Temperado. Documentos, 318), p. 36, 2010.**

CARDOSO, P.; TOMAZINI, A. B.; STRINGHETA, P. C.; RIBEIRO, S. M. R.; PINHEIRO-SANT'ANA, H. M. Vitamin C and carotenoids in organic and conventional fruits grow in Brazil. **Food Chemistry**. v. 126, p.411-416, 2011.

CASTAÑEDA-OVANDO, A.; PACHECO-HERNÁNDEZ, M. L.; PÁEZ-HERNÁNDEZ, M. E.; RODRÍGUEZ, J. A.; GALÁN-VIDAL, C. A. Chemical studies of anthocyanins: A review. **Food Chemistry**, v. 113, n. 4, p. 859 – 871, 2009.

CEREZO, A. B.; CUEVAS, E.; WINTERHALTER, P.; PARRILA-GARCIA, M. C.; TRONCOSO, A. M. Isolation, identification, and antioxidant activity of anthocyanin compounds in Camarosa strawberry. **Food Chemistry**. v. 123, p. 574-582, 2010.

CHARLES, M. T.; MERCIER, M. T.; MAKHLOUF, J.; ARUL, J. Physiological basis of UV-C induced resistance to *Botrytis cinerea* in tomato fruit I. Role of pre- and- postchallenge accumulation of the phytoalexin-rishitin. **Postharvest Biology and Technology**, v. 47 p. 10-20, 2008.

CHARLES, M. T.; TANO, K.; ASSELIN, A.; ARUL, J. Physiological basis of UV-C induced resistance to *Botrytis cinerea* in tomato fruit v. constitutive defence enzymes and inducible pathogenesis-related proteins. **Postharvest Biology and Technology**. v. 51, p. 414-424, 2009.

CLIFFORD, M. N.; SCALBERT, A. Ellagitannins – Nature, occurrence and dietary burden. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 80, n. 7, p.1118–1125, 2000.

COLMENARES, A. J.; ALEU, J.; DURÁN-PATRÓN, R.; COLLADO, I. G.; HERNÁNDEZ-GALÁN, R. The putative role of botrydial and related metabolites in the infection mechanism of *Botrytis cinerea*. **Journal Chemical Ecology**. v.28, p.997–1005, 2002.

CONKLIN, P. L.; BARTH, C. Ascorbic acid, a familiar small molecule intertwined in the response of plants to ozone, pathogens, and the onset of senescence. **Plant Cell Environment**, v.27, p. 959–970, 2004.

CORDENUNSI, B. R.; GENOVESE, M. I.; NASCIMENTO, J. R. O.; HASSIMOTTO, N. M. A.; SANTOS, R. J.; LAJOLO, F. M. Effect of temperature on the chemical composition and antioxidant activity on three strawberry cultivars. **Food chemistry**, v. 91, p. 113 - 121, 2005.

CORRALES, M.; SOUZA, P. M.; STAHL, M. R.; FERNÁNDEZ, A. Effects of the decontamination of a fresh Tiger nut's Milk beverage (horchata) with short wave ultraviolet treatments (UV-C) on quality attributes. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**. v. 13, p. 163-168, 2012.

COSTA, L., VICENTE, A. R., CIVELLO, P. M., CHAVES, A. R., MARTINEZ, G. A. UV-C treatment delays postharvest senescence in broccoli florets. **Postharvest Biology and Technology**, v.39, p.204–210, 2006.

CRUZ-RUS, E.; AMAYA, I.; SÁNCHEZ-SEVILLA, J. F.; BOTELLA, M. A.; VALPUESTA, V. Regulation of L-ascorbic acid content in strawberry fruits. **Journal of Experimental Botany**. v. 62, n.12, p. 4191-4201, 2011.

DEAN, R.; VAN KAN, J. A. L.; PRETORIUS, Z. A.; HAMMOND-KOSACK, K. E.; DI PIETRO, A.; SPANU, P. D.; RUDD, J. J.; DICKMAN, M.; KAHMANN, R.; ELLIS, J.; FOSTER, G. D. Review: The top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. **Molecular Plant Pathology**. v.13, n. 4, p.414-130, 2012.

DEBOLT, S.; MELINO, V.; FORD, C. M. Ascorbate as a biosynthetic precursor in plants. **Annals of Botany**. v. 99, p.3-8, 2007.

DE WAARD, M. A.; ANDRADE, A. C.; HAYASHI, K.; SCHOONBEEK, H.; STERGIOPULOS, I.; ZWIERS, L. H. Impact of fungal drug transporters on fungicide sensitivity, multidrug resistance and virulence. **Pest Manage Science**. v. 62, p. 195-207, 2006.

DIMITRIUS, B. Sources of natural phenolic antioxidants. **Trends in Food Science e Technology**, v. 17, p. 505 – 512, 2006.

DOERFLER, H.; LYON, D.; NA GELE, T.; SUN,X.; FRAGNER, L. HADACEK, F.; EGEIHOFFER V.; WECKWERTH, W. Granger causality in integrated GC-MS and LC-MS metabolomics data reveals the interface of primary and secondary metabolism. **Metabolomics**. p. 1-11, 2012.

DOHLEMANN, G.; BERNDT, P.; HAHN, M. Different signaling pathways involving a G-alpha protein cAMP and MAP kinase control germination of *Botrytis cinerea* conidia. **Molecular Microbiology**. v. 59, p. 821-835, 2006.

ERKAN, M.; WANG, S. Y.; WANG, C. Y. Effect of UV treatment on antioxidant capacity, antioxidant enzyme and decay in strawberries fruit. **Postharvest Biology and Technology**. v.48, n.2, p.163 – 171, 2008.

ESCALONA, V. H.; AGUAVO, E.; MARTINEZ-HERNANDEZ, G. B.; ARTES, F. UV-C doses to reduce pathogen and spoilage bacterial growth in vitro in baby spinach. **Postharvest Biology and Technology**. v. 56, p. 233-231, 2010.

ESPINO, J. J.; BRITO, N.; NODA, J.; GONZALES, C. Botrytis cinerea endo- β -1,4-glucanase Cel5A is expressed during infection but is not required for pathogenesis. **Physiology Molecular Plant Pathology**. v. 66, p.213–221, 2005.

EULGEM, T.; SOMSSICH, I. Networks of WRKY transcription factors in defense signaling. **Current Opinion In Plant Biology**. v.10, p.366-371, 2007.

FERNANDES, V. C.; DOMINGUES, V. F.; MATEUS, N.; DELERUE-MATOS, C. Organochlorine pesticide residues in strawberries from integrated pest management and organic farming. **Journal of Food Agricultural and Food Chemistry**. v. 59, p. 7582-7591, 2011.

FETTER, M. R. ; VIZZOTTO, MARCIA ; CORBELINI, D. ; GONZALEZ, T. N. Compostos Bioativos E Atividade Antioxidante Em Araçá Amarelo, Araçá Vermelho (*Psidium cattleianum* Sabine) E Araçá-Pêra (*P. Acutangulum* D.C.)

Cultivados Em Pelotas, Rs. **Brazilian Journal of Food Technology** (Online), v. IIISSA, p. 92-95. 2010.

GALLETTI, R.; FERRARI, S.; DE LORENZO, G. Arabidopsis MPK3 and MPK6 play different roles in basal and oligogalacturonide or flagellin induced resistance against *Botrytis cinerea*. **Plant Physiology**. v. 157, p. 804-814, 2011.

GALLI, F. et al. **Manual de Fitopatologia: Doenças das plantas cultivadas**. São Paulo: Agronômica Ceres, 2^o ed. P. 587, 1997.

GARCÍA, J. M.; HERRERA, S.; MORILLA, A. Effects of postharvest dips in calcium chloride on strawberry. **Journal Agricultural and Food Chemistry**. v.44, p. 30-33, 1996.

GECHEV, T. S.; HILLE, J. Molecular basis of plant stress. **Cellular and Molecular Life Sciences**. v. 69, p.3161-3163, 2012

GIAMPIERI, F.; TULIPANI, S.; ALVAREZ-SUAREZ, J. M.; QUILES, J. L.; MEZZETTI, B.; BATTINO, M. The strawberry: composition, nutritional quality, and impact on human health. **Nutrition**. v,28,p. 9-19, 2012.

GILL, S. S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**. v.48, p. 909-930, 2010.

GOMEZ, P. L.; ALZAMORA, S. M.; CASTRO, M. A.; SALVATORE, D. M. Effect of ultraviolet-C light dose on quality of cut-apple: microorganism, color and compression behavior. **Journal Food Engineering**. v. 98, p.60-70, 2010.

GONGALVES, J. F. C.; SANTOS-JUNIOR, U. M.; NINA-JUNIOR, R.; CHEVREUIL, L. R. Energetic flux and performance index in copaiba (*Copaifera multijuga* Hayne) and mahogany (*Swietenia macrophylla* King) seedlings grown

under two irradiance environments. **Brazilian Journal of Plant Physiology** v. 19, p. 171-184, 2007.

GOURGUES, M.; BRUNET-SIMON, A.; LEBRUN, M. H.; LEVIS, C. The tetraspanin BcPIs1 is required for appressorium-mediated penetration of *Botrytis cinerea* into host plant leaves. **Molecular Microbiology**. v. 51, p. 619–629, 2004.

GRAHAM, J.; GORDON, S. C.; SMITH, K.; MCNICOL, R. J.; MCNICOL, J. W. The effect of the cowpea trypsin inhibitor in strawberry on damage by vine weevil under field conditions. **Journal Horticultural Science Biotechnology**. v. 77, p.33-40, 2002.

GUIDARELLI, M.; CARBONE, F.; MOURGUES, F.; PERROTTA, G.; ROSATI, C.; BERTOLINI, P. *Colletotrichum acutatum* interactions with unripe and ripe strawberry and transcriptional levels. **Plant Pathology**. v. 60, p. 685-697, 2011.

GUO, X.; STOTZ, H. U. Aba signaling inhibits oxalate-induced production of reactive oxygen species and protects against *Sclerotinia sclerotiorum* in *Arabidopsis thaliana*. **European Journal of Plant Pathology**. v. 128, n. 1, p. 7-19, 2010.

GURURANI, M. A.; VENKATESH, J.; UPADHYAYA, C. P.; NOOKARAJU, A.; PANDEY, S. K.; PARK, S. W. Plant disease resistance genes: current and future directions. **Physiological and Molecular Plant Pathology**. v. 78, p. 51-65, 2012.

HAMMERSCHMIDT, R. Systemic acquired resistance. **Advances in Botanical Research**. v. 51, p. 173-222, 2009.

HARREN, K.; SCHUMACKER, J.; TUDZYNSKI, B. The Ca^{2+} /calcineurin-dependent signaling pathway in the gray mold *Botrytis cinerea*: The role of calcipressin in modulating calcineurin activity. **Plos One**. 2012.

HELLER, J.; RUHNKE, N.; ESPINO, J. J.; MASSAROLI, M.; COLLADO, I. G.; TUDZYNSKI, P. The mitogen-activated protein kinase BcSak1 of *Botrytis cinerea* is required for pathogenic development and has broad regulatory functions beyond stress response. **Molecular Plant Microbe Interaction**. v. 25, n. 6, p. 802-816, 2012.

HEMMATY, S.; MOALLEMI, N.; NASERI, L. Shelf-life and quality of apple fruits in response to postharvest application of UV-C radiation. **Journal of Applied Horticulture**, v. 8, n. 2, p. 114-116, 2006.

HENNING, S. M.; SEERAM, P.; ZHANG, Y.; LI, L.; GAO, K.; LEE, R.; WANG, D.; ZERLIN, A.; KARP, H.; THAMES, G.; KOTLERMAN, J.; LI, Z.; HEBER, D. Strawberry consumption is associated with increased antioxidant capacity in serum. **Journal of Medicinal Food**. v. 13, n. 1. p. 116-122, 2010.

HJERNO, K.; ALM, R.; CANBACK, B.; MATTHIESEN, R.; TRAJKOVSKI, K.; BJORK, L. Down-regulation of the strawberry Bet v 1-homologous allergen in concert with the flavonoid biosynthesis pathway in colorless strawberry mutant. **Proteomics**. v. 6, p. 1574-1587, 2006.

HOEBERICHTS, F.A.; TEN HAVE, A.; WOLTERING, E. J. A tomato metacaspase gene is upregulated during programmed cell death in *Botrytis cinerea*-infected leaves. **Planta**, v. 217, p.517–522, 2003.

HOPKINS, W. G.; HUNER, N. P. A . **Introduction to Plant Physiology**. 3^o ed. United States of America, p.493-513, 2004.

IBDAH, M.; AZULAY, Y.; PORTNOY, V.; WASSERMAN, B.; BAR, E.; MEIR, A.; BURGER, Y.; HIRSCHBERG, J.; SCHAFFER, A. A.; KATZIR, N.; TADMOR, Y.; LEWINSOHN, E. Functional characterization of CmCCD1, a carotenoid cleavage dioxygenase from melon. **Phytochemistry**, v. 67, n. 15, p. 1579 – 1589, 2006.

IGNAT, I.; VOLF, I.; POPA, V. I. A critical review of methods for characterization of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. **Food Chemistry**. v. 126, p. 1821-1835, 2011.

JANSEN, M.A.K., K. HECTORS, N.M. O'BRIEN, Y. GUISEZ AND G. Potters: Plant stress and human health: Do human consumers benefit from UV-B acclimated crops? A review. **Plant Science**. v. 175, p. 449-458, 2008.

JIMENEZ-LOPEZ, J. C.; GACHOMO, W.; ARIYO, O. A.; BABA-MOUSSA, L.; KOTCHONI, S. O. Specific conformational epitope features of pathogenesis-related proteins mediating cross-reactivity between pollen and food allergens. **Molecular Biology Reporter**. v. 39, p. 123-130, 2012.

JIN, P.; WANG, S. Y.; WANG, C. Y.; ZHENG, Y. Effect of cultural system and storage temperature on antioxidant capacity and phenolic compounds in strawberries. **Food Chemistry**. v. 124, p.262-270, 2011.

JOUBERT, A.; KARS, I.; WAGEMAKERS, C. A. M.; BERGMAN, C.; KEMP, G.; VIVIER, M. A.; VAN KAN, J. A. L. A polygalacturonase inhibiting protein from grapevine reduces the symptoms of the endopolygalacturonase BcPG2 from *Botrytis cinerea* in *Nicotiana benthamiana* leaves without any evidence for in vitro interaction. **Molecular Plant-Microbe Interaction**. v. 20, p. 392-402, 2007.

KHAN, A. A. Characterization of chitinase activities, and cloning analysis, and expression of genes encoding pathogenesis related proteins strawberry. **PhD Thesis**. Department of Biological Sciences Louisiana State. University and Agricultural and Mechanical College, Louisiana.

KARS, I.; WAGEMAKERS, C. A. M.; MCCALMAN, M.; VAN KAN, J. A. L. Functional analysis of *Botrytis cinerea* pectin methylesterase genes by PCR-based targeted mutagenesis: Bcpme1 and Bcpme2 are dispensable for virulence of strain B05.10. **Molecular Plant Pathology**. v. 6, p. 641–652, 2005.

KARLSSON, A. L.; ALM, R.; EKSTRAND, B.; FJELKNER-MODIG, S.; SCHIOTT, A.; BENGTSSON, U. Bet v 1 homologues in strawberry identified as IgE-binding proteins and presumptive allergens. **Allergy**. v. 59, p. 1277-1284, 2004.

KATELARIS, C. H. Food allergy and oral allergy or pollen-food syndrome. **Current Opinion in Allergy & Clinical Immunology**. v. 10, n. 3, p. 246-251, 2010.

KEUTGEN, A.J.; PAWELZIK, E. Modifications of Strawberry fruit antioxidant pools and fruit quality under NaCl stress. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Los Angeles, v.55, n.10, p.4066- 4072, 2007.

KHANIZADEH, S.; REKIK, D.; EHSANI-MOGHADDAM, B.; TSAO, R.; YANG R.; CHARLES, M.T. Horticultural Characteristics And Chemical Composition Of Advanced Raspberry Lines From Quebec And Ontario. **Food Science And Technology**, v.42, n. 4, p. 893–898, 2009.

KIRUBAKARAN, S. I.; BEGUM, S. M. ULAGANATHAN, K.; SAKTHIVEL, N. Characterization of a new antifungal lipid transfer proteins from wheat. **Plant Physiology Biochemical**. v. 46, p. 918-927, 2008.

KOVACH, J.; PETZOLDT, R.; HARMAN, G. E. Use of honey bees and bumble bees to disseminate *Trichoderma harzianum* to strawberries for *Botrytis* control. **Biological Control**. v.18, p. 235–242, 2000.

KOVÁCS, E.; KERESZTES, A. Effect of gama and UVB/C radiation on plant cells. **Micron**. v. 33, p. 199-210, 2002.

KUSKOSKI, E. M.; ASUERO, A. G.; MORALES, M. T.; FETT, R. Frutos tropicais silvestres e polpas de frutas congeladas: atividade antioxidante, polifenóis e antocianinas. **Ciência Rural**, v.36, n.4, p.1283-1287, 2006.

LEMOINE, M. L.; CHAVES, A. R.; MARTÍNEZ, G. A. Influence of combined got air and UV-C treatment on the antioxidant system of minimally processed broccoli (*Brassica oleracea* L. var. Italica). **LWT- Food Science and Technology**. v. 43, n. 9, p. 1313-1319, 2010.

LEROCH, M.; PLESKEN, C.; WEBER, R. W. S.; KAUFF, F.; SCALLIET, G.; HAHN, M. Gray mold populations in german strawberry fields are resistant to multiple fungicides and dominated by a novel clade closely related to *Botrytis cinerea*. **Applied Environmental Microbiology**. v. 79, n. 1 p. 159, 2013.

LINSTER, C. L.; GOMEZ, T. A.; CHRISTENSEN, K. C.; ADLER, L. N.; YOUNG, B. D.; BRENNER, C.; CLARKE, S. G. Arabidopsis VTC2 Encodes a GDP-L-Galactose Phosphorylase, the Last Unknown Enzyme in the Smirnoff-Wheeler Pathway to Ascorbic Acid in Plants. **Journal Biol. Chemistry**. V. 282, p.18879-18885, 2007.

LEES, D. H; FRANCIS, F. J. Standardization of Pigment Analyses in Cranberries. **HortScience**, v. 7, p. 83 - 84, 1972.

LORENCE A, CHEVONE BI, MENDES P, LOPEZ-CARBONELL M, MUNNE-BOSCH S, ALEGRE L. The ascorbate-deficient vtc-1 Arabidopsis mutant shows altered ABA accumulation in leaves and chloroplasts. **Journal of Plant Growth Regulation**. v.25, p. 137–144, 2006.

LOPEZ-MALO, A. P.; PALOU, E. Ultraviolet Light and Food Preservation. In: BARBOSÁ-CÁNOVAS, G.V.; TAPIA, M.S.; CANO, M.P. **Novel Food Processing Technologies**. v. 18, p. 405–421, 2005.

LUNA, E.; BRUCE, T. J. A.; ROBERTS, M. R.; FLORS, V.; TON, J. Next-generation systemic acquired resistance. **Plant Physiology** . v. 158, n. 2, p. 844-853, 2012.

LYON, G. D.; GOODMAN, B. A.; WILLIAMSON, B. Botrytis cinerea perturbs redox processes as an attack strategy in plants. In: Botrytis: Biology, Pathology and Control. p.19–141, 2004.

MACKENZIE, S. J.; CHANDLER, C. K.; HASING, T.; WHITAKER, V.M. The role of temperature in the late-season decline in soluble solids content of strawberry fruit in a subtropical production system. **Hort Science**. v. 46, p. 1562-1566, 2011.

MADAIL, J.C.M., ANTUNES, L. E., BELARMINO, L.C., SILVA, B. A., GARDIN, J.A., Avaliação Econômica dos Sistemas de Produção de Morango: Convencional, Integrado e Orgânico (**Comunicado Técnico, 181**). Pelotas, 2007.

MALACRIDA, C.R.; MOTTA, S. Antocianinas em suco de uva: Composição e Estabilidade. **Boletim do CEPPA**, v. 21, n. 1, p. 59 - 82, 2006.

MANOSALVA, P. M.; PARK, S.; FOROUHAR, F.; TONG, L.; FRY, W. E.; KLESSIG, D. F. Methyl esterase 1 (StMES1) is required for systemiv acquired resistance in potato. **Molecular Plant-Microbe Interactions**. v.23, n. 9, p. 1151-1163, 2010.

MANZOCCO, L.; PIEVE, S.; BERTOLINI, A.; BARTOLOMEOLI, I.; MAIFRENI, M.; VIANELLO, A.; NICOLI, M; C. Surface decontamination of fresh-cut Apple by UV-C light exposure: Effects on structure, colour and sensory properties.

MELO, E., A.; GUERRA, N., B. Ação antioxidante de compostos fenólicos naturalmente presentes em alimentos. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 36, p.1-11, 2002.

MÉTRAUX, J. Systemic acquired resistance and salicylic acid: current state of knowledge. **European Journal of Plant Pathology**. v. 107, p. 13-18, 2001.

MEYERS, K.J.; WATKINS, C.B.; PRITTS, M.P.; LIU, R.H. Antioxidant and antiproliferative activities of strawberries. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Los Angeles, v.51, n.23, p.6887-6892, 2003.

MITHOFER, A.; BOLAND, W. Plant defense against herbivores: chemical aspects. **Annual Review of Plantbiology**.v. 63, p.431-450, 2012.

OH, M.; TRICK, H. N.; RAJASHEKAR, C. B. Secondary metabolism and antioxidants are involved in environmental adaptation and stress tolerance in lettuce. **Journal of Plant Physiology**. v. 166. p. 180-191, 2009.

OLIVEIRA, R. P., SCIVITTARO, W. B.; CASTRO; Luis A. S. Novas Cultivares de Morangueiro para a Região de Pelotas. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 55**. 2007.

ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA AGRICULTURA E ALIMENTAÇÃO (FAO). Disponível em: < <https://www.fao.org.br/>>. Acesso em: 12 de novembro de 2012.

OSHITA, D.; GARDEN, I. C. S. F. Strawberry: a concern food, environmental and health monitored by modern liquid chromatography. **Scientia Chromatographica**. San Carlos, v.4, n.1, p. 52-76, 2012.

OSORIO, S.; BOMBARELY, A.; GIAVLISCO, P.; USADEL, B.; STEPHENS, C.; ARAGUEZ, I.; MEDINA-ESCOBAR, N.; BOTELLA, M. A.; FERNIE, A. R.; VALPUESTA, V. Demethylation of oligogalacturonides by FaPE1 in the fruits of the wild strawberry *Fragaria vesca* triggers metabolic and transcriptional changes associated with defence and development of the fruit. **Journal Experimental Botany**. v. 62, n. 8, p.2855-2873, 2011.

OSORIO, S.; CASTILLEJO, C.; QUESADA, M. A.; MEDINA-ESCOBAR, N.; BROWNSEY, G. J.; SUAU, R.; HEREDIA, A.; BOTELLA, M. A.; VELPUESTA, V. Partial demethylaton of oligogalacturonides by pectin methyl esterase 1 is required for eliciting defence responses in wild strawberry (*Fragaria vesca*). **Plant Journal**. v. 54, n. 1, p. 43-55,2008.

PAGOT, E.; HOFFMANN, A. **Produção de pequenas frutas no Brasil**. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO SOBRE PEQUENAS FRUTAS, 1, 2003, Vacaria. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, p.9-17, 2003.

PERKINS-VEAZIE, P. Growth and ripening of strawberry fruit. **Horticultural Reviews**. v.17, p. 321-330, 2010

PINCEMAIL, J.; KEVERS, C.; TABART, J.; DEFRAIGNE, J-O.; DOMMES, J. Cultivar, culture, conditions, and harvest time influence phenolic and ascorbic acid contents and antioxidant capacity of strawberry (*Fragaria x ananassa*). **Journal of Food Science**. v. 77, n. 2, p. 205-210, 2012.

POMBO, M. A.; DOTTO, M. C.; MARTINEZ, G. A.; CIVELLO, P. M. UV-C irradiation delays strawberry fruit softening and modifies the expression of genes involved in cell wall degradation. **Postharvest Biology and Technology**. v. 51, n. 2, p. 141-148, 2009.

POMBO, M. A.; ROSLI, H. G.; MARTINEZ, G. A. ; CIVELLO, P. M. UV-C treatment affects the expression and activity of defense genes in strawberry fruit (*Fragaria x ananassa*, Duch.) **Postharvest Biology and Technology**. v.59, P. 94-102, 2011.

PUHL, I.; TREUTTER, D. Ontogenic variation of catechin biosynthesis as basis for infection and quiescence of *Botrytis cinerea* in developing strawberry fruits. **Journal of Plant Diseases and Protection**. v. 115, n. 6, p.247-251, 2008.

RABOLLE, M.; SLIID, N. H.; KRISTENSEN, K.; KUDSK, P. Determination of fungicide residues in field-grown strawberries following different fungicides strategies against gray mold (*Botrytis cinerea*). **Journal Agricultural and Food Chemistry**. v. 54, p. 900-908, 2006.

RAI, R.; MEENA, R. P.; SMITA, S. S.; SHUKLA, A.; RAI, S. K.; RAI, S. P. UV-B and UV-C pre-treatments induce physiological changes and artemisin

biosynthesis in *Artemisia annua* L. – An antimalarial plant. **Journal of Photochemistry and Photobiology: Biology**. v. 105, n. 3, p. 216-225, 2011.

RADIN, B.; LISBOA, B. B.; WITTER, S.; BARNI, V.; REISSER JÚNIOR, C.; MATZENAUER, R.; FERMINO, M. H. Desempenho de quatro cultivares de morangueiro em duas regiões ecoclimáticas do Rio Grande do Sul. **Horticultura Brasileira**. v.29, n.3, p. 287-291, 2011.

RAMAKRISHNA, A.; RAVISHANKAR, G. A. Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. **Plant Signalling Behavior**. Austin – USA, v.6, n.11, p. 1720-1731, 2011.

RAVEN, P. H; EVERT, R. F; EICHHORN, S. E. **Biologia vegetal** 7 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. p. 830, 2007.

REINO, J. L.; HERNÁNDEZ-GALÁN, R.; DURÁN-PATRÓN, R.; COLLADO, I. G. Virulence-toxin production relationship in isolates of the plant pathogenic fungus *Botrytis cinerea*. **Journal Phytopathology**. v. 152, p. 563-566, 2004.

RICE-EVANS, C.A. Flavonoid antioxidants. **Current Medicinal Chemistry**, Amsterdam, v.8, n.7, p.797-807, 2001.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. **A Guide to Carotenoids Analysis in Food**. 1. ed. Washington: International Life Sciences Institute Press, 2001. 64p.

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**, v.27, n.1, p.53-60, 2007.

ROLKE, Y.; LIU, S.; QUIDDE, T.; WILLIAMSON, B.; SCHOUTEN,S.; WELTRING, K. M.; SIEWERS, V.; TENBERGE, K. B.; TUDZYNSKI, B.;

ROSSLENBROICH, H.; STUEBLER. Botrytis cinerea – history of chemical control and novel fungicides for its management. **Crop Protection**. v. 19, p.557-561, 2000.

SABTER-JARA, A. B.; ALMAGRO, L.; BELCHÍ-NAVARO, S.; BARCELÓ, A. R.; PADREÑO, A. Methyl jasmonate induces extracellular pathogenesis-related proteins in cell cultures of *Capsicum chinense*. **Plant Signalling & Behavior**. v.6, n. 3, p. 440-442, 2011.

SAHREEN, S.; KHAN, M. R.; KHAN, R. A. Evaluation of antioxidant activities of various solvent extracts of *Carissa opaca* fruits. **Food Chemistry**. v. 122, p.1205-1211, 2010.

SAXENA, S. C.; JOSHI, P. K.; GRIM, B.; ARORA, S. Alleviation of ultraviolet-c induced oxidative damage through overexpression of cytosolic ascorbate peroxidase. **Biologia – Section Cellular and Molecular Biology**. v. 66, n. 6, p. 1052-1059, 2011.

SEERAM, N. P.; ADAMS, L. S.; ZHANG, Y.; LEE, R.; SAND, D.; SCHEULLER, H. S.; HEBER, D. Blackberry, black raspberry, blueberry, cranberry, red raspberry, and strawberry extracts inhibit growth and stimulate apoptosis of human cancer cells in vitro. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.54, p. 9329-9339, 2006.

SENHOR, R. F.; CARVALHO, J. N. SOUZA, P. A.; NETO, R. C. A.; MARACAJÁ, P. B. Eficiência de diferentes fungicidas no controle de *Alternaria alternata*, agente causal da podridão pós-colheita em frutos de meloeiro. **Revista Caatinga**. v. 22, n.4, p. 14-19, 2009.

SEVERO, J., 2009. Maturação e UVC na expressão transcricional de genes envolvidos nas rotas metabólicas de parede celular, compostos fenólicos e aromas em morango. 94f. **Dissertação de Mestrado**, Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas-RS.

SEVERO, J. 2011. Radiação UV-C altera a transcrição de genes e as respostas fisiológicas em tomate e morango. 122f. **Tese de Doutorado**, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas-RS.

SIEWERS, V.; VIAUS, M.; JIMENES-TEJA, D.; COLLADO, I. G.; GRONOVER, S.; PRADIER, C.; TUDZYNSKI, J. M.; TUDZYNSKI, B. Functional analysis of the cytochrome P450 monooxygenase gene Bcbot1 of *Botrytis cinerea* indicates that botrydial is a strain-specific virulence factor. **Molecular Plant-Microbe Interaction**. v. 18, p. 602–612, 2005.

SILVA, F. L.; ESCRIBANO-BAILÓN, M. T.; ALONSO, J. J. P.; RIVAS-GONZALO, J. C.; SANTOS-BUELGA, C. Anthocyanin pigments in strawberry. **LWT-Food Science and Technology**. v. 40, n. 2, p. 374-382, 2007.

SILVA, R. F.; PASCHOLATI, S. F.; BEDENDO, I. P. Indução de resistência em tomateiro por extratos aquosos de *Lentinula edodes* e *Agaricus blazei* contra *Ralstonia solanearum*. **Fitopatologia Brasileira**. v. 32, n. 3. P. 189-196, 2007.

SILVA, P. E. M.; SANTIAGO, E. F.; SILVA, E. M.; SÚAREZ, Y. R.; DALOSO, D. M. Chlorophyll-a fluorescence and symmetry deviation as tools for investigating plants under stress. **Idesia**. v. 29, n. 3, p. 45-52, 2011.

SHAHIDI, F.; HO, C. T. (Ed.). Phenolic compounds in foods and natural health products. Washington, DC.: **American Chemical Society**, 320 p., 2005 (ACS Symposium Series, 909).

SHI, Y.; ZHANG, Y.; SHIH, D. S. Cloning and expression analysis of two beta-1,3-glucanase genes from strawberry. **Journal Plant Physiology**. v. 163, p. 956-967, 2006.

SHLEZINGER, N.; DORON, A.; SHARON. Apoptosis-like programmed cell death in the grey mould fungus *Botrytis cinerea*: genes and their role in pathogenicity. **Biochemical Society Transactions**. v. 39, p.1493-1498, 2011.

SHORESH, M.; HARMAN, G. E.; MASTOURI, F. Induced systemic resistance and plant responses to fungal biocontrol agents. **Annual Review Phytopathology**. v. 48, p. 21-43, 2010.

SHUMACKER, J.; TUDZYNSKI, P. Morphogenesis and Pathogenicity in Fungi. **Topics in Current Genetics**. v.22, p. 225-241, 2012.

SCHUMACHER, J.; VIAUD, M.; SIMON, A.; TUDZYNSKI, B. The G α subunit BCG1, the phospholipase C (BcPLC1) and the calcineurin phosphatase coordinately regulate gene expression in the grey mould fungus *Botrytis cinerea*. **Molecular Microbiology**. v. 67, n.5, p.1027-1050, 2008.

SOARES, S.E. Phenolic acids as antioxidants. **Revista de Nutrição**, Campinas, v.15, p. 71-81, 2002.

SOUZA FILHO, A. P. S.; ALVES, S. M. **Alelopatia**: princípios básicos e aspectos gerais. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, p. 260, 2002.

SOUZA, G. M.; VIANA, J. O. F.; OLIVEIRA, R. F. Asymmetrical leaves induced by water deficit show asymmetric photosynthesis in common bean. **Brazilian Journal of Plant Physiology**. V. 17, p. 223-227, 2005.

STAATS, M.; VAN BAARLEN, P.; SCHOUTEN, P.; VAN KAN, J. A. L.; BAKKER, F. T. Positive selection in phytotoxic protein-encoding genes of *Botrytis* species. **Fungal Genetic Biology**. v. 44, p.52–63, 2007.

STAHL, W.; SIES, H. Carotenoids and flavonóides contribute to nutritional protection against skin damage from sunlight. **Molecular Biotechnology**, Totowa, v.37, n.1, p.26-30, 2007.

STICHER, L.; MAUCH, M. B.; METRAUX, J. P. Systemic acquired resistance. **Annual Review of Phytopathology**. v. 35, p.235-270, 1997.

SWAIN, T.; HILLIS, W. T. The phenolic constituents of *Prunus domestica*. **Science of Food and Agriculture**, London, v.10, p.135-144, 1959.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. Porto Alegre: Artmed, 4.ed. p.819, 2009.

TENBERGE, K. B. Morphology and cellular organization in *Botrytis* interactions with plants. **Botrytis: Biology, Pathology and Control**. p.67–84, 2004.

THOMMA, B. P.; PENNINGCKX, I. A.; CAMMUE, B. P.; BROEKAERT, W. F. The complexity of disease signaling in *Arabidopsis*. **Current Opinion Immunology**. v. 13, p. 63-68, 2001.

TUDZYNSKI, P. Functional analysis of H₂O₂-generating systems in *Botrytis cinerea*: the major Cu-Zn-superoxide dismutase (BCSOD1) contributes to virulence on French bean, whereas a glucose oxidase (BCGOD1) is dispensable. **Molecular Plant Pathology**. v. 5, p.17–27, 2004.

TULIPANI, S.; MARZBAN, G.; HERNDL, A.; LAIMER, M.; MEZZETTI, B.; BATTINO, M. Influence of environmental and genetic factors on health-related compounds in strawberry. **Food Chemistry**. v. 124, p. 906-913, 2011.

VAIN, P.; WORLAND, B.; CLARKE, M. C.; RICHARD, G.; BEAVIS, M.; LIU, H. Expression of an engineered cysteine protein as inhibitor (Oryzacystatin-I D86) for nematode resistance in transgenic rice plants. **Theor Applied Genetic**. v. 96, p. 266-271, 1998.

VAN BAARLEN, P.; WOLTERING, E. J.; STAATS, M.; VAN KAN, J. A. L. Histochemical and genetic analysis of host and non-host interactions of *Arabidopsis* with three *Botrytis* species: an important role for cell death control. **Molecular Plant Pathology**. v. 8, n.1 p.41-54, 2007.

VANDENDRIESSCHE, T.; KEULEMANS, J.; GEERAERD, A.; NICOLAI, B. M.; HERTOOG, M. L. A. T. M. Evaluation of fast volatile analysis for detection of *Botrytis cinerea* infection strawberry. **Fod Microbiology**.v. 32, p. 406-414, 2012.

VAN LOON, L. C.; Inuced resistance in plants and the role of pathogenesis-related proteins. **European Journal of Plant Pathology**. v. 103, p. 753-765, 1997.

VAN LOON, L. C.; PIERPOINT, W. S.; BOLLER, T.; CONEJERO, V. Recommendations for naming plant pathogenesis-related proteins. **Plant molecular biology reporter**. v. 12, n. 3. P. 245-264, 1994.

VAN LOON, L.C.; VAN STRIEN, E. A. The families of pathogenesis-related proteins, their activities, and comparative analysis of PR-1 type proteins. **Physiology Molecular Plant Pathology**. v. 55, p. 85-97,1999.

VERHAGE, A.; VAN WEES, S. C. M.; PIETERSE, C. M. J. Plant immunity: It's the hormones talking, but what do they say? **Plant Physiology**. v. 154, n. 2.p. 536-540, 2010.

VELOSILLO, T.; VICENTE, J.; KULASEKARAN, S.; HAMBERG, M.; CASRITESANA. Emerging complexity in reactive oxygen species production and signaling during the response of plants to pathogens. **Plant Physiology**. v. 154, n. 2,p. 444-448, 2010.

VIRET, O.; KELLER, M.; JAUDZEMS, V. G.; COLE, M. F. *Botrytis cinerea* infection of grape flowers: light and electron microscopical studies of infection sites. **Phytopathology**, v. 94, p.850–857, 2004.

WALTERS, D. R.; FOUNTAINE, J. M. Pratical application of induced resistance to plantdiseases: an appraisal of effectiveness under field conditions. **The Journal of Agricultural Science**. v. 147, n. 5, p. 523-535, 2009.

WILLIAMSON, B.; TUDZYNSKI, B.; TUDZYNSKI, P.; VAN KAN, J. A. L. *Botrytis cinerea*: the cause of grey mould disease. **Molecular Plant Pathology**. v. 8, n. 5, p.561-580, 2007.

WINDRAM, O.; MADHOU, P.; MCHATTIE, S.; HILL, C.; HICKMAN, R.; COOKE, E.; JENKINS, D. J.; PENFOLD, C. A.; BAXTER, L.; REEZE, E.; KEDDLE, S. J. RHODES, J.; ATWELL, S.; KLIEBENSTEIN, D. J.; KIM, Y.; STEGLE, O.; BORGWARDT, K.; ZHANG, C.; TABRETT, A.; LEGAIE, R.; MOORE, J.; FINKENSTADT, B.; WILD, D. L.; MEAD, A.; RAND, D.; BEYNON, J.; OTT, S.; BUCHANAN-WOLLASTON, V.; DENBYA, K. J. Arabidopsis defense against *Botrytis cinerea*: Chronology and regulation deciphered by high-resolution temporal transcriptomic analysis. **The Plant Cell**. v. 24, p.3530-3557, 2012.

WUBBEN, J. P.; MULDER, W.; TEN HAVE, A.; VAN KAN, J. A. L.; VISSER, J. Cloning and partial characterisation of endopolygalacturonase genes from *Botrytis cinerea*. **Applied Environmental Microbiology**. v. 65, p.1596–1602, 1999.

XIA, Y.; GAO, Q.; YU, K.; LAPCHYK, L.; NAVARRE, D.; HILDEBRAND, D.; KACHROO, A.; KACHROO, P. An intact cuticle in distal tissues is essential for the induction of systemic acquired resistance in plants. **Cell Host & Microbe**. v. 5, n. 2, p. 151-165, 2009

XU, X.; WEDGWOOD, E.; BERRIE, A. M.; ALLEN, J.; O'NEIL, T. M. Management of raspberry and strawberry grey mould in open field and under protection. A review. **Agronomy for Sustainable Development**.v. 32, p. 531-543, 2012

YAMADA, T. Resistência de plantas às pragas e doenças: pode ser afetada pelo manejo da cultura? Informações Agronômicas, Piracicaba: **Ceres/Potafos**. n.108, dez. 2004.

YANG, Q.; YAN, L.; GU, Q.; MA, Z. The mitogen-activated protein kinase kinase BcOs4 is required for vegetative differentiation and pathogenicity in *Botrytis cinerea*. *Applied Microbial and Cell Physiology*. v. 96, p.481-492, 2012.

YANG, X. T.; SONG, J.; CAMPBELL-PALMEN, L.; WALKEN, B.; ZHANG, Z. Allergen related gene expression in apple fruit is differentially controlled by ethylene during ripening. **Postharvest Biology and Technology**. v. 63, p. 40-49, 2012.

ZAHA, A. **Biologia Molecular Básica**. 3° ed. Porto Alegre: mercado aberto, 2003.

ZAICOVSKI, C. Caracterização de frutas nativas da Região Sul da América do Sul quanto à presença de compostos bioativos da atividade antioxidante e da atividade anti proliferativa frente a células tumorais. 2008. 91f. **Tese** (Doutorado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) – Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

ZANDER, M.; CAMERA, S. L.; LAMOTTE, O.; MÉTRAUX, J. GATZ, C. *Arabidopsis thaliana* class-II TGA transcription factors are essential activators of jasmonic acid/ethylene-induced defense responses. **The Plant Journal**. v.61, n. 2, p. 200-210, 2010.

ZECHMANN, B.; STUMPE, M.; MAUCH. Immunocytochemical determination of the subcellular distribution of ascorbate in plants. **Planta**. v. 233, p.1-12, 2011.

ZHANG, H.; WANG, L.; ONG, Y.; JIANG, S.; CAO, J.; MENG, R. Postharvest biological control of gray mold decay of strawberry with *Rhodotorula glutinis*. **Biological Control**. v. 40, n.2, p.287-292, 2007.

ZHANG, L.; VAN KAN, J. A. L. *Botrytis cinerea* mutants deficient in D-galacturonic acid catabolism have a perturbed virulence on *Nicotiana*

benthamiana and *Arabidopsis*, but not on tomato. **Molecular Plant Pathology**. v. 14, n. 1, p. 19-29, 2013.

ZHANG, Y.; SHIH, D. S. Isolation of an osmotin-like protein from strawberry and analysis of the response of this gene to abiotic stresses. **Journal Plant Physiology**. v.164, p. 68-77, 2007.

ZHANG, Y. Studies of pathogenesis-related proteins in the strawberry plant: partial purification of a chitinase-containing protein complex and analysis of an osmotin-like protein gene. **Thesis**. Louisiana State University and Agricultural and Mechanical College. Louisiana, 2006.

ZHOU, C.; ZHAO, D.; SHENG, Y.; TAO, J.; YANG, Y. Carotenoids in fruits of different persimmon cultivars. **Molecules**. v. 16, p. 624-636.

ZUNINO, S. J.; PARELMAN, M. A.; FREYTAG, T. L.; STEPHENSEN, C. B.; KELLEY, D. S.; MACKEY, B. E.; WOODHOUSE, L. R.; BONNEL, E. L. Effect of dietary strawberry powder on blood lipids and inflammatory markers in obese human subjects. **British Journal of Nutrition**. v. 108, p. 900-909, 2012.