

EVALUACIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE *PELARGONIUM GRAVEOLENS* PARA PREVENIR LA PODREDUMBRE MORENA EN DURAZNO

Stegmayer, María Inés^{1*}; Seimandi, Gisela²; Álvarez, Norma Hortensia³; Moreno, María Julieta⁴; Ruiz, Verónica^{2,3};
Reutemann, Andrea Guadalupe^{3,5}; Favaro, María Alejandra^{2,3}; Derita, Marcos Gabriel^{2,6}

1 Facultad de Ciencias Veterinarias, FCV-UNL, Kreder 2805 (CP. 3080) Esperanza, Santa Fe, Argentina.

2 ICiAgro Litoral-CONICET-UNL, Kreder 2805 (CP. 3080) Esperanza, Santa Fe, Argentina.

3 Facultad de Ciencias Agrarias, FCA-UNL, Kreder 2805 (CP. 3080) Esperanza, Santa Fe, Argentina.

4 LEFyBiFa- INBIOFAL-CONICET, Av. Kirchner 1900 (CP. 4000) San Miguel de Tucumán, Tucumán, Argentina.

5 Instituto de Botánica Darwinion, Labardén 200 (CP. B1642HYD) San Isidro, CONICET, Buenos Aires, Argentina.

6 Facultad de Cs. Bioquímicas y Farmacéuticas, FBIOyF-UNR, Suipacha 531 (CP. 2000) Rosario, Santa Fe, Argentina.

mistegmayer@gmail.com

RESUMEN: *Monilinia fructicola* deteriora la calidad de frutos de carozo a campo y en poscosecha. El uso reiterado de productos químicos para controlar la enfermedad, generó resistencia en el patógeno y disminución de efectividad, aumentando la búsqueda de alternativas en las últimas décadas. El presente estudio tiene como objetivo describir el aislamiento e identificación molecular del patógeno, la actividad fungicida *in vitro* y *ex vivo* del aceite esencial de geranio (AE *Pelargonium graveolens*) y su composición química. El AE obtenido por hidrodestilación mostró actividad fungicida *in vitro*, mediante metodología de volátiles, del 100% de inhibición del crecimiento fúngico a 1.000 ppm. Los ensayos *ex vivo* se realizaron en durazno cv 'Flordaking', dosis de 1.000 ppm del AE de *P. graveolens*, agua destilada como control positivo y carbendazim como control negativo. Se calcularon intervalos de confianza de proporciones de frutos sanos y el tratamiento con AE arrojó valores intermedios entre ambos controles ($p < 0,05$). El perfil químico del AE se determinó mediante GC-MS. Los principales compuestos y su porcentaje en la mezcla fueron: Geraniol (24,89%), Citronelol (19,50%), Linalool (10,92%) y γ -Eudesmol (8,93%). Los resultados alientan el posible uso del AE de geranio para el control de *M. fructicola* en poscosecha de duraznos.

PALABRAS CLAVE: *Monilinia fructicola*, poscosecha, aceite esencial, productos naturales, *Prunus persica*.

EVALUATION OF THE ESSENTIAL OIL OF *PELARGONIUM GRAVEOLENS* TO PREVENT BROWN ROT IN PEACHES

ABSTRACT: *Monilinia fructicola* deteriorates the quality of stone fruits in the field and post-harvest. The repeated use of chemical products to control the disease generated resistance in the pathogen and decreased effectiveness, prompting the search for alternative control measures in recent years. This study aims to describe the isolation and molecular identification of the pathogen, the *in vitro* and *ex vivo* fungicidal activity of geranium essential oil (EO *Pelargonium graveolens*) and its chemical composition. The EO obtained by hydrodistillation showed *in vitro* fungicidal activity, using volatile method, of 100% inhibition of fungal growth at 1,000 ppm. The *ex vivo* tests were carried out in peach cv 'Flordaking', dose of 1,000 ppm of the EO of *P. graveolens*, distilled water as a positive control and carbendazim as a negative control. Confidence intervals for the proportion of healthy fruits were calculated and treatment with EO gave intermediate values between both controls ($p < 0.05$). The chemical profile of the EO was determined by GC-MS. The main compounds and their percentage in the mixture were: Geraniol (24.89%), Citronellol (19.50%), Linalool (10.92%) and γ -Eudesmol (8.93%). The results suggest the potential use of geranium EO for the control of *M. fructicola* in postharvest of peaches.

KEYWORDS: *Monilinia fructicola*, post-harvest, essential oil, natural products, *Prunus persica*.

INTRODUCCIÓN

El durazno (*Prunus persica* (L.) Batsch) es uno de los cultivos frutales de mayor importancia económica en las regiones templadas, después de la manzana y la pera [1]. Se cultiva ampliamente en más de 200 países, siendo China y España los principales productores a nivel mundial, con 16.000.000 y 1.197.840 toneladas registradas en el año 2021, respectivamente [2]. En este contexto, según la FAOSTAT Argentina se

destaca en el puesto 18 del top 20 de países productores, con 10.315 ha de área cosechada y 167.500 toneladas producidas en el mismo año; además, representa el 7% de la producción mundial de duraznos con destino a industria [3]. Mendoza representa alrededor del 70% de la superficie cultivada a nivel nacional, seguida por Buenos Aires (10%) [4]. Los frutos se consumen frescos y a través de productos industrializados

Recibido: 1/11/2023; Aceptado: 4/12/2023

como mitades enlatadas, mermelada, jalea, entre otros [5]. Las características morfofisiológicas de los frutos, tejido blando y el pericarpio delgado, dificultan la manipulación y almacenaje [6]. En consecuencia, se produce un aumento en la susceptibilidad a las infecciones y un rápido deterioro en el almacenaje y durante la poscosecha causado por hongos [7].

Aunque los patógenos primarios varían según la región y el cultivar, la podredumbre morena causada por *Monilinia fructicola* es la enfermedad que mayores daños económicos ocasiona en las zonas húmedas de cultivo del duraznero en Argentina [8]. Se manifiesta con mayor intensidad en primavera y veranos húmedos, pudiendo ocasionar importantes pérdidas de producción y serios problemas de comercialización [9]. Dado que las bajas temperaturas no son propicias para extender la duración de la planta, se recurre al empleo de fungicidas químicos [10]. No obstante, el uso constante de estos fungicidas puede llevar a una disminución en su efectividad, y en condiciones ideales para el desarrollo de la enfermedad, este problema se acentúa [11]. Adicionalmente, el inadecuado uso de fungicidas químicos ha generado problemas como la contaminación del entorno, perjuicios para la salud humana y ambiental, y la aparición de cepas resistentes [12]. Por este motivo, extender la vida útil de los duraznos sin recurrir a la aplicación de fungicidas se convierte en un desafío significativo para la industria frutihortícola [7]. Se requieren enfoques alternativos para reducir los riesgos ambientales y satisfacer la creciente demanda de alimentos seguros por parte de los consumidores.

Los aceites esenciales vegetales (AE) son compuestos volátiles que se obtienen de diversos órganos de las plantas y poseen una composición compleja en proporciones variables de alcoholes, aldehídos, cetonas, fenoles, ésteres, éteres y terpenos [13]. Se encuentran clasificados como GRAS por la Administración de Medicamentos y Alimentos de los Estados Unidos [14] y poseen amplias propiedades antimicrobianas, insecticidas y antioxidantes [15]. *Pelargonium graveolens* L'Hér. (geranio), perteneciente a la familia Geraniaceae, posee una epidermis con tricomas glandulares cubriendo toda la planta y en la que se biosintetiza el aceite esencial [16]. En particular, muchos autores han demostrado la capacidad antifúngica del AE contra hongos patógenos humanos como *Fusarium* sp., *Aspergillus niger*, *A. flavus* [17, 18], diferentes cepas de *Candida* sp. [19, 20], *Trichophyton mentagrophytes*, *T. rubrum*, *Microsporum canis*, *M. gypseum* [21, 22], *Malassezia* sp. [23] y *Helicobacter pylori* [24]. Asimismo, el AE del geranio también mostró ser efectivo contra hongos de interés agronómico tales como *Cladosporium fulvum*, *Phomopsis helianthi*, *Phoma macdonaldii* [22], *Rhizoctonia solani* [25], *Fusarium proliferatum* [26], *Penicillium funiculosum*, *P. ochrochloron*, *P. expansum*, *Rhizopus stolonifer* [27, 28], *Trametes hirsuta*, *Laetiporus sulphureus* [29] y *Botrytis cinerea* [30, 31]. Por tal motivo, el objetivo de este trabajo fue evaluar el potencial fungicida del AE de *P. graveolens* y su caracterización de los principales componentes químicos contra *M. fructicola* aislada de duraznos, como una alternativa al uso de químicos en la etapa de poscosecha.

METODOLOGÍA

Aceite esencial. Se recolectaron hojas de *P. graveolens* en el Campo Experimental de Cultivos Intensivos y Forestales (CECIF, RPN 6, km 7,5, 31° 26' S; 60° 56' W, Esperanza). Se destilaron hojas frescas en un aparato de tipo Clevenger por arrastre con vapor de agua. El material vegetal se pesó para calcular el rendimiento de AE obtenido por 1 kg de

material fresco procesado. El *voucher specimen* fue depositado en el Herbario de la FCA-UNL "Arturo Ragonese" (Herbario SF), Kreder 2805-(3080HOF)- Esperanza, Argentina, con código MD58. El producto obtenido se almacenó bajo enfriamiento en envase de vidrio ámbar hasta su uso.

Microorganismos y medios. La cepa monospórica de *M. fructicola* se obtuvo a partir de frutos de durazno que presentaron los síntomas típicos de enfermedad correspondientes a la pudrición parda y fueron caracterizadas morfológicamente por el departamento de Fitopatología de la Estación Experimental San Pedro del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Argentina. La cepa de *M. fructicola* se cultivó en medio de papa-dextrosa-agar (PDA) utilizando placas de Petri durante 7 días a 24-26 °C y se subcultivaron cada 15 días para evitar transformaciones pleomórficas. La identidad del patógeno se confirmó mediante la amplificación de las regiones espaciadoras transcritas internas (ITS) utilizando cebadores universales como lo describen Gupta *et al.* [32]. Las suspensiones de esporas se obtuvieron de acuerdo con los procedimientos informados por el *Clinical and Laboratory Standards Institute* [33] y se ajustaron a 1×10^4 unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC/mL).

Ensayo fungicida *in vitro*. Se cubrieron cajas de Petri de 6 cm de diámetro con 10 mL de medio agar-papa-glucosa (APG); una vez solidificado se inoculó una suspensión de conidios de 10^4 UFC/mL dentro de un pocillo ubicado en el centro. Una vez que se evaporó el agua de la solución de conidios inoculada, se depositaron 10 µL de aceite esencial de *P. graveolens* (AEPg) y agua estéril como control de crecimiento (T+) en el centro de las tapas de las placas, mientras que como control químico (T-) se utilizó carbendazim en dosis comercial (Formulación 50 % EC 50 - 70 cm³/hl). La cantidad de aceite esencial aplicada representó una concentración de 1.000 ppm. Las cajas de Petri se incubaron boca abajo para que el aceite esencial, una vez evaporado, entrara en contacto con el medio de cultivo donde crecía el hongo (metodología adaptada de Álvarez-Castellanos *et al.* [34]). Una vez que el micelio de las placas control cubrió completamente la superficie del medio (7 días aproximadamente), se realizaron las mediciones del diámetro del micelio desarrollado en cada placa tratada con aceite esencial mediante su escaneo (escáner LA2400 con el software WinRHIZO 2013 (Regeant Instrument Canada Inc 2013) para su posterior análisis con el software ImageJ® [35, 36]. Los ensayos se realizaron por triplicado y el porcentaje de inhibición del crecimiento fúngico se calculó de acuerdo con la siguiente ecuación: $I \% = 100 (C-M)/C$, donde I% representa el porcentaje de inhibición, C el promedio del área de micelio de las 3 placas de control y M el promedio del área de micelio de las 3 placas tratadas.

Ensayos fungicidas *ex vivo*. Se utilizó el método descrito por Cindi *et al.* [37] con modificaciones menores. Se realizaron evaluaciones diarias durante 5 días de frutos de la variedad 'Flordaking' en estadios previos a la madurez comercial, utilizándose 10 unidades experimentales por cada tratamiento. Los duraznos fueron adquiridos de productores de la zona del centro de Santa Fe que realizan tratamientos convencionales. Se realizó la desinfección de los duraznos durante 1 minuto con hipoclorito de sodio al 2% P/V y posterior enjuague con agua desmineralizada a cada unidad experimental. Se realizaron dos inoculaciones puntuales en la zona cercana a la incisión del pedúnculo de cada unidad experimental con 10 µL de una solución de conidios de 1×10^5 UFC/mL del patógeno *M. fructicola*. Luego de 3 horas de realizada la inoculación, se procedió a la

inmersión durante 5 segundos en las soluciones tratantes de AEPg a una concentración de 1.000 ppm, y los tratamientos de T+, T-, agua destilada y carbendazim respectivamente. Diariamente se fotografiaron y se registraron los frutos infectados. Los duraznos tratados se almacenaron a temperatura ambiente de 20 °C en bandejas desinfectadas con tapa, de manera de garantizar la humedad. Se registró el porcentaje de frutos en descomposición y la severidad de la enfermedad durante 7 días. Esta se registró diariamente según una escala empírica en base a la escala de Wagner Júnior *et al.* [38], con puntuaciones de 0 a 4: 0, fruto sin infección; 1, de 0 a 25% de la superficie de la fruta con daño por enfermedad; 2, de 25 a 50% de la superficie de la fruta con daño a la enfermedad; 3, del 50 al 75% de la superficie del fruto con daño por enfermedad; y 4, más del 75% de la superficie del fruto con daño por enfermedad. Se realizó un análisis categórico (χ^2 -cuadrado) mediante el programa estadístico RStudio [39] de las proporciones de los frutos enfermos ($\alpha > 0,05$). En el caso de que se encontraran diferencias, se realizaron intervalos de proporciones.

Análisis cromatográfico. El aceite esencial fue sometido a cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) para identificar sus componentes principales. Los compuestos se identificaron comparando los espectros de masas con la base de datos NIST de 2011 disponible. La muestra se analizó con un cromatógrafo de gases (Agilent modelo 7890B) acoplado a un espectrómetro de masas (Agilent modelo 5977, columna: HP-5MS UI, 30 mx 0,25 mm con película de 0,25 μ m). Las condiciones de funcionamiento fueron las siguientes: 250 °C Temperatura de la columna del inyector: 160 °C mantenida durante 3 min, lo que lleva a 5 °C/min hasta 30 °C, tiempo de funcionamiento: 31 min. Volumen de inyección: 1 μ L - División: 1:20, según el método Adams [40].

RESULTADOS Y DISCUSION

Aceite esencial

El rendimiento de aceite esencial fue de 3 mL 1.000 g⁻¹ de material vegetal fresco (0,3%). El porcentaje obtenido en este estudio fue ligeramente superior al registrado en investigaciones previas, que oscilaban entre el 0,22% y el 0,28% [41, 42, 43], aunque menor que el valor reportado en 2013 por Bouzenna & Krichen [25]. Sin embargo, es importante mencionar que el contenido de aceites esenciales en las plantas tiende a variar debido a diversas condiciones, como el momento y la época de la cosecha [44, 45].

Microorganismos y medios. *M. fructicola* fue caracterizado y depositado en el departamento de Fitopatología de la Estación Experimental San Pedro del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Argentina, con el código: INTA-SP345. Utilizando el ADN de cada aislado, las regiones ITS de los genes fúngicos se secuenciaron y alinearon con las entradas de la base de datos de secuencias del NCBI. La búsqueda mostró que los datos de secuencia de la cepa aislada INTA-SP345 compartían un 99,9% de similitud con *M. fructicola* (EU131181). La secuencia de nucleótidos generadas en este estudio se depositó en la base de datos GenBank mediante el número de acceso OR063822.

Ensayo fungicida in vitro

El aceite esencial de *P. graveolens* inhibió el 100% del crecimiento de *M. fructicola* durante el ensayo *in vitro* (Figura 1).

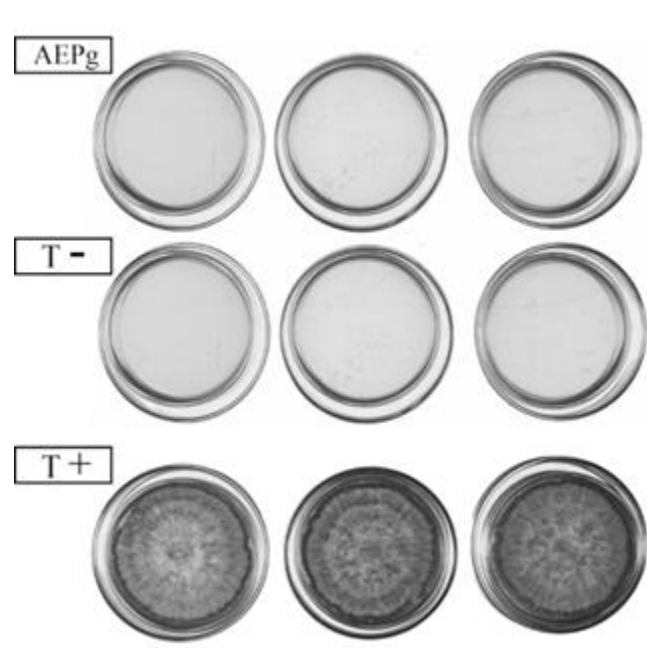


Figura 1 - Inhibición del crecimiento de *Monilinia fructicola* después de 7 días: AEPg: Aceite Esencial de *Pelargonium graveolens* 1.000 ppm; T-: Carbendazim, dosis comercial; T+: agua esterilizada (control).

Este resultado concuerda con otros estudios previamente mencionados en la literatura, en los cuales se observó que hongos fitopatógenos como *Alternaria alternata*, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium* sp. y *Penicillium* sp. fueron inhibidos por el aceite esencial de geranio a la misma concentración [25, 26, 28]. Además, Diáñez *et al.* [46], utilizando el método de difusión en disco, llevaron a cabo una evaluación de 12 aceites esenciales, entre ellos el de *Pelargonium*, frente a varios fitopatógenos de importancia, como *Botrytis cinerea*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Fusarium oxysporum*, entre otros, obteniendo resultados similares.

Ensayos fungicidas ex vivo

A partir del segundo día de inoculación, se observaron los primeros síntomas de la pudrición marrón causada por el agente *M. fructicola* en los tratamientos T+ y AEPg. El intervalo para la proporción de enfermos del total de los frutos en T+ fue de 1 (Figura 2). Valores intermedios fueron hallados para AEPg ($0,41 < p < 0,98$) mientras que para T- fue de 0. La comparación de los diferentes intervalos mostró diferencias entre T+, AEPg y T- ($p < 0,05$).

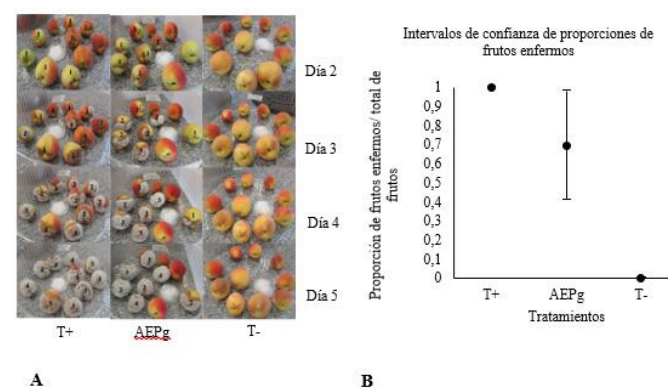


Figura 2 - A. Evolución de los grados de infección por *M. fructicola* luego de la aplicación de los diferentes tratamientos. Dosis tratante: 1.000 ppm. Tratamientos: Inoculado + agua desmineralizada (T+), AE de *P. graveolens* (AEPg), Control químico Carbendazim a dosis comercial (T-). B. Intervalo de confianza de la proporción de frutos enfermos de los diferentes tratamientos en relación a la infección por *M. fructicola* ($p < 0,05$).

En ensayos realizados en durazno por Yan *et al.* [47], se utilizaron cuatro tratamientos con AE que redujeron el desarrollo de enfermedades en duraznos inoculados con *R. stolonifer*. Sólo *Mentha piperita* mostró, después de 48 y 72 h de almacenamiento, un efecto continuo y significativo reduciendo la incidencia de la enfermedad en un 20%. En ensayos con *Rosa grandiflora* se obtuvieron, a través de la aplicación del AE de *P. graveolans*, comportamientos similares al control químico para combatir la incidencia y severidad del moho gris en estas flores de corte [30].

Existen ensayos donde, además, se cuantifican las propiedades y las características organolépticas de los frutos luego de la aplicación de AE [48-51]. En general, se destacan que los efectos de los AE disminuyen la gravedad de las lesiones. Así, diversos autores observaron un retraso en la aparición de la enfermedad durante el almacenamiento [50-52]. Ensayos realizados con AE de *Melaleuca alternifolia* en duraznos en poscosecha observaron cambios morfológicos y ultraestructurales en las hifas de *M. fructicola* [6]. Además, el AE de lavanda mostró una buena inhibición contra *M. fructicola* en duraznos planos a dosis de 800 µL/L; en este mismo estudio se asociaron con la fuga de contenidos citoplasmáticos, la distorsión de las hifas y la alteración de las esporas como la expresión de los genes de apoptosis RTG1 y RLM1. Los compuestos principales del AE de lavanda fueron monoterpenos y sesquiterpenos al igual que el AE de *P. graveolans*, que se presume contribuyen a los efectos inhibitorios [53].

Tanto los microorganismos como las plantas son organismos vivos que interactúan con el ambiente y modifican sus comportamientos, por lo que resultados obtenidos en diferentes laboratorios son difícilmente comparables para las evaluaciones *in vivo* o de poscosecha, debido a los diferentes factores que influyen en el resultado final [54].

Composición química

El aceite esencial obtenido en este estudio mediante el método Clevenger se caracterizó por ser rico en geraniol, lo que coincide con los informes de Babu & Kaul [55] y Božović *et al.* [56]. El valor comercial del aceite esencial de geranio se determina en función de su contenido de citronelol. En este trabajo los componentes predominantes fueron geraniol y citronelol (Tabla 1).

Tabla 1 - Tiempo de retención y porcentaje de los principales compuestos presentes en el aceite esencial de geranio obtenido en este trabajo.

Compuesto	Tiempo de retención (min)	Porcentaje en la mezcla (%)
Geraniol	16,602	24,89
Citronelol	15,469	19,50
β-Linalol	10,279	10,92
γ-Eudesmol	31,067	8,93
Formiato de citronelilo	17,392	6,30
Isomentona	12,728	3,73
Tiglat de geranilo	34,157	3,30
D-Germacreno	25,740	2,55
Formiato de geranilo	18,496	2,14

El geraniol es frecuentemente destacado en la literatura debido a su fuerte actividad antimicrobiana, como lo han señalado Duarte *et al.* [57] y Jirovetz *et al.* [58]. En este sentido, se demostró que dicho compuesto inhibe el crecimiento de *C. albicans* y *S. cerevisiae*, donde en su

mecanismo de acción aumenta la tasa de fuga de potasio de las células enteras y permeabilidad de la membrana [59]. Además, muestra un efecto potenciador sobre la absorción percutánea de fármacos altamente lipófilos en ratones [60] como antiproliferativos sobre las células de cáncer de colon humano [61]. De manera similar, el citronelal y el citronelol también han sido reconocidos por sus propiedades antimicrobianas, como reportaron Kordali *et al.* [62]. La proporción de los componentes principales, geraniol y citronelol, varió ligeramente en comparación con los hallazgos de Rana *et al.* [63], Fayed [64] y Džamić *et al.* [22], quienes realizaron una caracterización similar (Figura 3).

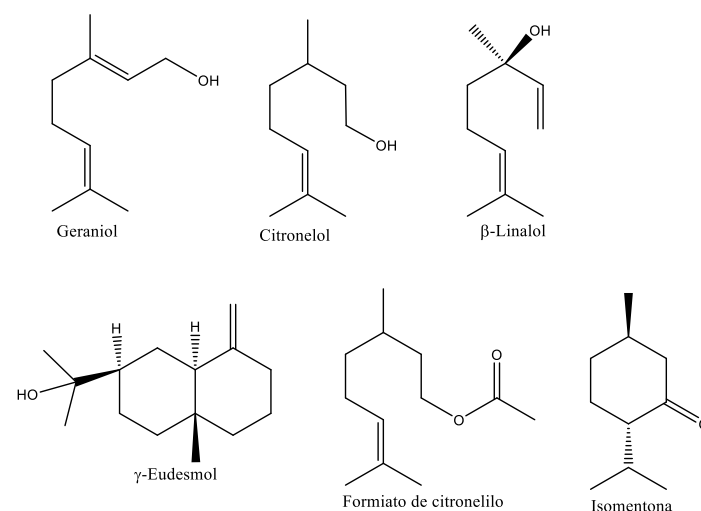


Figura 3 - Estructuras químicas de los seis compuestos más importantes presentes en el aceite esencial de geranio.

Esta variación en la relación entre citronelol y geraniol podría estar relacionada con la temperatura del aire antes de la cosecha, ya que niveles elevados de citronelol sugieren estrés por frío en las plantas de geranio, como se indicó en el estudio de Doimo *et al.* [41].

El uso terapéutico de sustancias de origen vegetal para tratar diversas enfermedades es conocido [65], pero el aprovechamiento de estas plantas como fuente de nuevas potenciales moléculas en la agronomía es un campo que se encuentra en expansión.

CONCLUSIONES

El aceite esencial de *P. graveolans* se obtuvo adecuadamente mediante destilación con vapor de agua. El geraniol y el citronelol fueron los principales compuestos de la muestra. El ensayo fungicida *in vitro* inhibió totalmente el crecimiento del fitopatógeno *M. fructicola* aislado de frutos infectados. El ensayo *ex vivo* en duraznos respondió al tratamiento con carbendazim comercial, ya que no mostró ninguna incidencia de la enfermedad, en comparación con los frutos inoculados con agua, asegurando así la eficacia de este producto para el tratamiento de *M. fructicola*. Por otro lado, los duraznos infectados respondieron al tratamiento con aceite esencial de geranio, mostrando una severidad de la enfermedad significativamente menor en comparación con los duraznos inoculados y tratados con agua. Los resultados sugieren que el aceite esencial de geranio en una dosis de 1.000 ppm es moderadamente efectivo como fungicida alternativo contra la enfermedad de la podredumbre morena en comparación con carbendazim a dosis comercial.

REFERENCIAS

- [1] Y. Li, L. Wang. "Genetic resources, breeding programs in China, and gene mining of peach: a review". *Hortic. Plant J.*, 6(4), **2020**, 205-215. <https://doi.org/10.1016/j.hpj.2020.06.001>
- [2] FAO. 2023. Estadísticas de la FAO Cultivos. Disponible en: <https://www.fao.org/faostat/en/#data>
- [3] M. Viera, M. Ojer, J. Vitale. "Duraznos para la industria en Argentina: perspectiva al 2030". *Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Cuyo*, **2022**. Pp. 173.
- [4] M. Cantaloube, M. Rios, S. Velocce, J. Manjon, L. Fernández, C. Perez Andreucetti, O. Giordano, C. Fernández. "Los números del durazno industria". *Instituto de Desarrollo Rural, Ministerio de Economía y Energía de la provincia de Mendoza*, **2021**. Pp. 53.
- [5] B. Zheng, L. Zhao, X. Jiang, S. Cheron, J. Liu, C. Ogutu, Y. Han. "Assessment of organic acid accumulation and its related genes in peach". *Food Chem.*, 334, **2021**, 127567. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127567>
- [6] Y. Xu, J. Wei, Y. Wei, P. Han, K. Dai, X. Zou, X. Shao. "Tea tree oil controls brown rot in peaches by damaging the cell membrane of *Monilinia fructicola*". *Postharvest Biol. Technol.*, 175, **2021**, 111474. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2021.111474>
- [7] M. Hashem, S. A. Alamri, M. S. Alqahtani, S.R. Alshehri. "A multiple volatile oil blend prolongs the shelf life of peach fruit and suppresses postharvest spoilage". *Sci. Hort.*, 251, **2019**, 48-58. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.03.020>
- [8] M. S. Mitidieri, M. O. Barbieri, M. V. Brambilla, E. Piris. "In vitro effect of lemon essential oil and garlic extract on *Monilinia fructicola* growth". *Agroc. Urug.*, **2021**, 25(NSPE1).
- [9] M. Dini, M. D. C. B. Raseira, G. H. Valentini, R. Zoppolo. "Peach: current situation in Uruguay, Brazil and Argentina". *Agrociencia Uruguay*, **2021**, 25(nspe1).
- [10] S. Tian, R. Torres, A. R. Ballester, B. Li, L. Vilanova, L. González-Candelas. "Molecular aspects in pathogen-fruit interactions: Virulence and resistance". *Postharvest Biol. Technol.*, 122, **2016**, 11-21. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2016.04.018>
- [11] D. J. Daferera, B. N. Ziogas, M. G. Polissiou. "The effectiveness of plant essential oils on the growth of *Botrytis cinerea*, *Fusarium* sp. and *Clavibacter michiganensis* subsp. *Michiganensis*". *Crop Prot.*, 22(1), **2003**, 39-44. [https://doi.org/10.1016/S0261-2194\(02\)00095-9](https://doi.org/10.1016/S0261-2194(02)00095-9)
- [12] G. Romanazzi, S. M. Sanzani, Y. Bi, S. Tian, P. G. Martínez, Alkan N. "Induced resistance to control postharvest decay of fruit and vegetables". *Postharvest Biol. Technol.*, 122, **2016**, 82-94. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2016.08.003>
- [13] D. Sivakumar, S. Bautista-Baños. "A review on the use of essential oils for postharvest decay control and maintenance of fruit quality during storage". *Crop Prot.*, 64, **2014**, 27-37. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2014.05.012>
- [14] <https://www.cfsanappsexternal.fda.gov/scripts/fdcc/index.cfm?set=GRASNotices>
- [15] H. Falleh, M. B. Jemaa, M. Saada, R. Ksouri. "Essential oils: A promising eco-friendly food preservative". *Food Chem.*, 330, **2020**, 127268. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127268>
- [16] B. Blerot, S. Baudino, C. Prunier, F. Demarne, B. Toulemonde, J.C. Caissard. "Botany, agronomy and biotechnology of *Pelargonium* used for essential oil production". *Phytochem. Rev.*, 15, **2016**, 935-960. <https://doi.org/10.1007/s11101-015-9441-1>
- [17] A. Kujur, A. Kumar, A. Yadav, B. Prakash. "Antifungal and aflatoxin B1 inhibitory efficacy of nanoencapsulated *Pelargonium graveolens* L. essential oil and its mode of action". *LWT*, **2020**, 109619. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109619>
- [18] A. B. Hsouna, N. Hamdi. "Phytochemical composition and antimicrobial activities of the essential oils and organic extracts from *Pelargonium graveolens* growing in Tunisia". *Lipids Health Dis.*, 11(167), **2012**, 1-7. <https://doi.org/10.1186/1476-511X-11-167>
- [19] K. Gucwa, S. Milewski, T. Dymerski, P. Szveda. "Investigation of the antifungal activity and mode of action of *Thymus vulgaris*, *Citrus limonum*, *Pelargonium graveolens*, *Cinnamomum cassia*, *Ocimum basilicum*, and *Eugenia caryophyllus* essential oils". *Molecules*, 23(5), **2018**, 1116. <https://doi.org/10.3390/molecules23051116>
- [20] R. Essid, M. Hammami, D. Gharbi, I. Karkouch, T. B. Hamouda, S. Elkahoui, F. Limam, O. Tabbene. "Antifungal mechanism of the combination of *Cinnamomum verum* and *Pelargonium graveolens* essential oils with fluconazole against pathogenic *Candida* strains". *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 101(18), **2017**, 6993-7006. <https://doi.org/10.1007/s00253-017-8442-y>
- [21] M. Mahboubi, M. Valian. "Anti-dermatophyte activity of *Pelargonium graveolens* essential oils against dermatophytes". *Clin. Phytoscience*, 5(1), **2019**, 1-5. <https://doi.org/10.1186/s40816-019-0121-3>
- [22] A. M. Džamić, M. D. Soković, M. S. Ristić, S. M. Grujić, K. S. Mileski, P. D. Marin. "Chemical composition, antifungal and antioxidant activity of *Pelargonium graveolens* essential oil". *J. Appl. Pharm. Sci.*, 4(3), **2014**, 001-005. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2014.40301>
- [23] A. R. Naeini, M. Nazeri, H. Shokri. "Antifungal activity of *Zataria multiflora*, *Pelargonium graveolens* and *Cuminum cyminum* essential oils towards three species of *Malassezia* isolated from patients with pityriasis versicolor". *J. Mycol. Med.*, 21(2), **2011**, 87-91. <https://doi.org/10.1016/j.mycmed.2011.01.004>
- [24] M. A. Ibrahim, O. W. Sallem, M. R. Abdelhassib, O. A. Eldahshan. "Potentiation of anti-*Helicobacter pylori* activity of clarithromycin by *Pelargonium graveolens* oil". *Arab J. Gastroenterol.*, 22(3), **2021**, 224-228. <https://doi.org/10.1016/j.ajg.2021.05.016>
- [25] H. Bouzenna, L. Krichen. "*Pelargonium graveolens* L'Her. and *Artemisia arborescens* L. essential oils: chemical composition, antifungal activity against *Rhizoctonia solani* and insecticidal activity against *Rhyssopertha dominica*". *Nat. Prod. Res.*, 27(9), **2013**, 841-846. <https://doi.org/10.1080/14786419.2012.711325>
- [26] S. Grine, F. Taibi, M. Berredjem, A. Dekir, F. Benaliouche, K. O. Rachedi, A. Acidi, N. Iqbal, A. Bhat, V. Niranjana, C. Lavanya, N. Soltani. "Antifungal activity of the essential oil of *Pelargonium graveolens*. Molecular docking, molecular dynamics, DFT, and in silico ADMET studies of five derivatives". *J. Mol. Struct.*, 1294, **2023**, 136546. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2023.136546>
- [27] Y. El Ouadi, H. Bendaif, H. Assaggaf, E. M. Abdallah, M. Mekkaoui, H. N. Mrabti, M. Manssouri, T. Benali, A. Bouyahya, A. Bouyanzer. "Efficacy of *Pelargonium graveolens* essential oils against some postharvest fungal diseases of apple". *Adv. Life Sci.*, 9(2), **2022**, 195-201.
- [28] M. A. Abd El-Kareem, M. Rabbih, H. O. Elansary, F. Al-Mana. "Mass spectral fragmentation of *Pelargonium graveolens* essential oil using GC-

- MS semi-empirical calculations and biological potential". *Processes*, 8(2), **2020**, 128. <https://doi.org/10.3390/pr8020128>
- [29] Y. Xie, Z. Wang, Q. Huang, D. Zhang. "Antifungal activity of several essential oils and major components against wood-rot fungi". *Ind. Crops Prod.*, 108, **2017**, 278-285. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.06.041>
- [30] M. I. Stegmayer, N. H. Álvarez, N. G. Sager, M. A. Buyatti, M. G. Derita. "Evaluation of *Pelargonium graveolens* essential oil to prevent gray mold in rose flowers". *J. Plant Prot. Res.*, 62(2), **2022**, 145-152. <https://doi.org/10.24425/jppr.2022.141353>
- [31] N. E. El-Naggar, W. I. Saber, A. M. Zweil, S. I. Bashir. "An innovative green synthesis approach of chitosan nanoparticles and their inhibitory activity against phytopathogenic *Botrytis cinerea* on strawberry leaves". *Sci. Rep.*, 12(1), **2022**, 3515. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-07073-y>
- [32] V. K. Gupta, M. G. Tuohy, R. Gaur. "Methods for high-quality DNA extraction from fungi". In *Laboratory Protocols in Fungal Biology*; Gupta, V., Tuohy, M., Ayyachamy, M., Turner, K., O'Donovan, A., Eds.; Springer: New York, NY, USA, **2012**, 403-406. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-2356-0_36
- [33] CLSI, *Clinical and Laboratory Standards Institute*. (2008). 2^o ed. Reference Method for Broth Dilution Fungicidal Susceptibility Testing for Filamentous Fungi. M38 A2. Wayne, USA, **2008**.
- [34] P. P. Álvarez-Castellanos, C. D. Bishop, M. J. Pascual-Villalobos. "Antifungal activity of the essential oil of flowerheads of garland chrysanthemum (*Chrysanthemum coronarium*) against agricultural pathogens". *Phytochemistry*, 57(1), **2001**, 99-102. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)00461-1](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)00461-1)
- [35] W.S. Rasband. ImageJ Software, **1997**
- [36] González, Ana María. "ImageJ: una herramienta indispensable para medir el mundo biológico". *Folium Relatos botánicos*, **2018**, 6-17.
- [37] M. D. Cindi, P. Soundy, G. Romanazzi, D. Sivakumar. "Different defense responses and brown rot control in two *Prunus persica* cultivars to essential oil vapours after storage". *Postharvest Biol. Technol.*, 119, **2016**, 9-17. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2016.04.007>
- [38] A. Wagner Jr., C. H. Bruckner, L. D. Pimentel, Morgado, M. A. D. O., C. S. Sediya, M. C. Raseira Bassols. "Evaluation of chilling requirement in peach through grafted twigs". En: *VI International Peach Symposium* 713, **2005**, 243-246. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2006.713.35>
- [39] T. RStudio. RStudio: integrated development for R. *Rstudio Team, PBC, Boston, MA* URL <http://www.rstudio.com>, **2020**
- [40] R. P. Adams. *Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry*. 5 online ed. Gruver, TX USA: Texensis Publishing, **2017**.
- [41] L. Doimo, D. C. Mackay, G. B. Rintoul, B. R. D'Arcy, R. J. Fletcher. "Citronellol: geraniol ratios and temperature in geranium (*Pelargonium hybrid*)". *J. Hortic. Sci. Biotechnol.*, 74(4), **1999**, 528-530. <https://doi.org/10.1080/14620316.1999.11511147>
- [42] A. T. H. Mossa. "Green pesticides: Essential oils as biopesticides in insect-pest management". *J. Environ. Sci. Technol.*, 9(5), **2016**, 354. <https://doi.org/10.3923/jest.2016.354.378>
- [43] R. Bika, F. Baysal-Gurel, C. Jennings. "*Botrytis cinerea* management in ornamental production: a continuous battle". *Can. J. Plant Pathol.*, 43(3), **2021**, 345-365. <https://doi.org/10.1080/07060661.2020.1807409>
- [44] B. R. Rao, P. N. Kaul, G. R. Mallavarapu, S. Ramesh. "Effect of seasonal climatic changes on biomass yield and terpenoid composition of rose-scented geranium (*Pelargonium species*)". *Biochem. Syst. Ecol.*, 24(7-8), **1996**, 627-635. [https://doi.org/10.1016/S0305-1978\(96\)00071-3](https://doi.org/10.1016/S0305-1978(96)00071-3)
- [45] R. S. Verma, L. U. Rahman, R. K. Verma, A. Chauhan, A. Singh. "Essential oil composition of *Pelargonium graveolens* L'Her ex Ait. cultivars harvested in different seasons". *J. Essent. Oil Res.*, 25(5), **2013**, 372-379. <https://doi.org/10.1080/10412905.2013.782476>
- [46] F. Diáñez, M. Santos, C. Parra, M. J. Navarro, R. Blanco, F. J. Gea. "Screening of antifungal activity of 12 essential oils against eight pathogenic fungi of vegetables and mushroom". *Lett. Appl. Microbiol.*, 67(4), **2018**, 400-410. <https://doi.org/10.1111/lam.13053>
- [47] J. Yan, H. Wu, F. Shi, H. Wang, K. Chen, J. Feng, W. Jia. "Antifungal activity screening for mint and thyme essential oils against *Rhizopus stolonifer* and their application in postharvest preservation of strawberry and peach fruits". *J. Appl. Microbiol.*, 130(6), **2021**, 1993-2007. <https://doi.org/10.1111/jam.14932>
- [48] D. Y. Abd-Elkader, M. Z. Salem, D. A. Komeil, A. A. Al-Huqail, H. M. Ali, A. H. Salah, H. S. Hassan. "Post-harvest enhancing and *Botrytis cinerea* control of strawberry fruits using low cost and eco-friendly natural oils". *Agronomy*, 11(6), **2021**, 1246. <https://doi.org/10.3390/agronomy11061246>
- [49] İ. Kahramanoğlu, O. Panfilova, T. G. Kesimci, A. U. Bozhüyük, R. Gürbüz, H. Alptekin. "Control of Postharvest Gray Mold at Strawberry Fruits Caused by *Botrytis cinerea* and Improving Fruit Storability through *Origanum onites* L. and *Ziziphora clinopodioides* L. Volatile Essential Oils". *Agronomy*, 12(2), **2022**, 389. <https://doi.org/10.3390/agronomy12020389>
- [50] K. Kelly, Y. Yagiz, Z. Li, G. Mahnken, W. Borejsza-Wysocki, M. Marshall, M. C. do Nascimento Nunes. "Sensory and Physicochemical Quality, Residual Fungicide Levels and Microbial Load in 'Florida Radiance' Strawberries from Different Disease Control Treatments Exposed to Simulated Supply Chain Conditions". *Foods*, 10(7), **2021**, 1442. <https://doi.org/10.3390/foods10071442>
- [51] M. G. Di Liberto, G. M. Seimandi, L. N. Fernández, V. E. Ruiz, L. A. Svetaz, M. G. Derita. Botanical control of citrus green mold and peach brown rot on fruits assays using a *Persicaria acuminata* phytochemically characterized extract. *Plants*, 10(3), **2021**, 425. <https://doi.org/10.3390/plants10030425>
- [52] M. M. El-fawy, R. M. I. El-Sharkawy, M. M. Ahmed. "Impact of pre- and post-harvest treatment with chemicals preservatives on *Botrytis* gray rot disease and fruit quality of strawberry". *A. A. S. J.*, 3(2), **2020**, 178-194. <https://doi.org/10.21608/aasj.2020.49300.1046>
- [53] X. Xiong, L. Zhang, X. Li, Q. Zeng, R. Deng, X. Ren, Q. Kong. "Antifungal mechanisms of lavender essential oil in the inhibition of rot disease caused by *Monilinia fructicola* in postharvest flat peaches". *Can. J. Microbiol.*, 67(10), **2021**, 724-736. <https://doi.org/10.1139/cjm-2020-0484>
- [54] A. El Khetabi, R. Lahlali, S. Ezrari, N. Radouane, L. Nadia, H. Banani, L. Askarne, A. Tahiri, L. El Ghadraoui, S. Belmalha, E. A. Barka. "Role of plant extracts and essential oils in fighting against postharvest fruit pathogens and extending fruit shelf life: A review". *Trends Food Sci.*, 120, **2022**, 402-417. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2022.01.009>
- [55] K. G. Babu, V. K. Kaul. "Variation in essential oil composition of rose-scented geranium (*Pelargonium* sp.) distilled by different distillation

techniques". *Flavour Fragr. J.*, 20(2), **2005**, 222-231.
<https://doi.org/10.1002/ffj.1414>

[56] M. Božović, A. Navarra, S. Garzoli, F. Pepi, R. Ragno. "Essential oils extraction: A 24-hour steam distillation systematic methodology". *Nat. Prod. Res.*, 31(20), **2017**, 2387-2396.
<https://doi.org/10.1080/14786419.2017.1309534>

[57] M. C. T. Duarte, E. E. Leme, C. Delarmelina, A. A. Soares, G. M. Figueira, A. Sartoratto. "Activity of essential oils from Brazilian medicinal plants on *Escherichia coli*". *J. Ethnopharmacol.*, 111(2), **2007**, 197-201.
<https://doi.org/10.1016/j.jep.2006.11.034>

[58] L. Jirovetz, G. Buchbauer, E. Schmidt, A. S. Stoyanova, Z. Denkova, R. Nikolova, M. Geissler. "Purity, antimicrobial activities and olfactory evaluations of geraniol/nerol and various of their derivatives". *J. Essent. Oil Res.*, 19(3), **2007**, 288-291.
<https://doi.org/10.1080/10412905.2007.9699283>

[59] M. Bard, M. R. Albrecht, N. Gupta, C. J. Guynn, W. Stillwell. "Geraniol interferes with membrane functions in strains of *Candida* and *Saccharomyces*". *Lipids*, 23, **1988**, 534-538.

[60] Y. Ota, A. Hamada, M. Nakano, H. Saito. "Evaluation of percutaneous absorption of midazolam by terpenes". *Drug Metab. Pharmacokinetics*, 18(4), **2003**, 261-266.

<https://doi.org/10.2133/dmpk.18.261>

[61] S. Carnesecchi, A. Bradaia, B. Fischer, D. Coelho, M. Schöller-Guinard, F. Gosse, F. Raul. "Perturbation by geraniol of cell membrane permeability and signal transduction pathways in human colon cancer cells". *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 303(2), **2002**, 711-715.
<https://doi.org/10.1124/jpet.102.039263>

[62] S. Kordali, R. Kotan, A. Cakir. "Screening of antifungal activities of 21 oxygenated monoterpenes *in-vitro* as plant disease control agents". *Allelopathy J.*, 19(2), **2007**, 373.

[63] V. S. Rana, J. P. Juyal, M. A. Blazquez. Chemical constituents of essential oil of *Pelargonium graveolens* leaves. *Int. J. Aromather.*, 12(4), **2002**, 216-218. [https://doi.org/10.1016/S0962-4562\(03\)00003-1](https://doi.org/10.1016/S0962-4562(03)00003-1)

[64] S. A. Fayed. "Antioxidant and anticancer activities of *Citrus reticulata* (Petitgrain Mandarin) and *Pelargonium graveolens* (Geranium) essential oils". *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*, 5(5), **2009**, 740-747.

[65] M. C. Leite, A. P. de Brito Bezerra, J. P. de Sousa, E. de Oliveira Lima. "Investigating the antifungal activity and mechanism (s) of geraniol against *Candida albicans* strains". *Med. Mycol.*, 53(3), **2015**, 275-284.
<https://doi.org/10.1093/mmy/myu078>