INSTITUTO AGRONÔMICO
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRICULTURA TROPICAL E SUBTROPICAL

MÉTODOS ALTERNATIVOS NO CONTROLE DO MOFO CINZENTO EM ROSAS 'AVANT GARDE'

BRUNO TREVENZOLI FAVERO

Orientadora: Dra. Patrícia Cia
Co-Orientadora: Dra. Gláucia Moraes Dias

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre** em Agricultura Tropical e Subtropical, Área de Concentração em Tecnologia da Produção Agrícola

Campinas
Abril de 2010

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Altamir e Giséle, por sempre acreditarem nos meus sonhos e me incentivarem a nunca desistir deles.

Aos meus avós, Valdemar e Julieta & Irineu (*in memorian*) e Lucila, minhas tias Giovana e Daniela, por todo amor e exemplos de vida.

AGRADECIMENTOS

À Dra. Patrícia Cia, pela orientação, confiança e amizade.

À Dra. Gláucia Moraes Dias, pela co-orientação, confiança e amizade.

À FAPESP e a CAPES, pela concessão da bolsa.

À Pós-graduação do IAC e à sua secretaria pela alta qualidade nos serviços prestados.

À equipe do CAPTA de Engenharia e Automação do IAC nas pessoas de Maria do Carmo Dorighello e Vera Regina Rocha pela ajuda sempre que solicitadas.

À Dra. Juliana Sanches pelo auxílio nas análises estatísticas.

À Dra. Eliane Aparecida Benato, ao Dr. José Maria Monteiro Sigrist e à Dra. Silvia Regina de Toledo Valentini, da equipe do GEPC/ITAL, pelo apoio e suporte no tratamento das rosas em câmaras herméticas.

À Itaforte e a Rohm-Haas, pela doação de seus produtos para realização dos experimentos.

Aos Sr. Adriano van Royen e ao Sr. Francisco Saito, pela colaboração e doação de material para realização dos experimentos.

À Gabriela Geerdink, Mariana Collucci e Otávio Faria, pela colaboração em diversos experimentos.

À Francine Scolfaro, pela intensa colaboração na manutenção dos isolados de *B. cinerea* e também pela amizade.

Ao Pablo Puertas, Adriano Camargo, Fernando Coppi, Renato Baron, Leonardo Muller, Jone Willians, Luciano Galerani, Alan Willians e Vanessa Batara, pela amizade e diversão nos momentos de lazer.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS..... v
LISTA DE FIGURAS..... vii
RESUMO..... ix
ABSTRACT..... xi
1 INTRODUÇÃO..... 1
2 REVISÃO DE LITERATURA..... 2
2.1 *Botrytis cinerea*..... 2
2.2 Métodos de Controle Convencionais..... 4
2.3 Métodos Alternativos de Controle..... 5
2.3.1 Agentes de controle biológico..... 5
2.3.2 1-MCP..... 6
2.3.3 Ozônio..... 7
2.3.4 Ácido Giberélico (GA_3) 7
2.3.5 Sacarose..... 8
2.3.6 Cálcio..... 9
2.4 Armazenamento Refrigerado..... 10
3 MATERIAL E MÉTODOS..... 11
3.1 Obtenção Do Isolado De *Botrytis cinerea*..... 11
3.2 Preparação Da Suspensão De Conídios De *Botrytis cinerea*..... 12
3.3 Avaliação De Agentes Alternativos, Aplicados Em Pré-Colheita, No Controle Do Mofo Cinzento. (Ensaio I)..... 12
3.4 Avaliação De Agentes Alternativos, Aplicados Em Pós-Colheita, No Controle Do Mofo Cinzento. (Ensaio II)..... 14
3.4.1 Sacarose + ácido cítrico..... 14
3.4.2 Sulfato de cálcio..... 15
3.4.3 Cloreto de cálcio..... 15
3.4.4 Ácido giberélico (GA_3) 15
3.4.5 Ozônio (O_3) 15
3.4.6 1-Metilciclopropeno (1-MCP) 15
3.5 Análise Dos Dados..... 16
4 RESULTADOS..... 16
4.1 Avaliação De Agentes Alternativos, Aplicados Em Pré-Colheita, No Controle Do Mofo Cinzento. (Ensaio I)..... 16
4.2 Avaliação De Agentes Alternativos, Aplicados Em Pós-Colheita, No Controle Do Mofo Cinzento. (Ensaio II)..... 18
4.2.1 Ácido Giberélico (GA_3)..... 18
4.2.2 Ozônio..... 22
4.2.3 Sacarose..... 25
4.2.4 Cálcio..... 27
4.2.5 1-Metilciclopropeno (1-MCP)..... 29
5 CONCLUSÕES..... 40
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... 41

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Estádio de abertura floral para rosas (escala de notas)..... 13

Tabela 2- Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) para incidência e índice de doença do mofo cinzento (*Botrytis cinerea*) em rosas 'Avant Garde' tratadas em pré-colheita com *Trichoderma harzianum*, cloreto de cálcio e clorotalonil, e armazenadas a 20±2 °C / 80±5% UR, durante seis dias..... 17

Tabela 3- Variação da massa fresca das hastes tratadas em pré-colheita com *Trichoderma harzianum*, cloreto de cálcio e clorotalonil, e armazenadas a 20±2 °C / 80±5% UR, durante seis dias..... 18

Tabela 4- Variação da massa fresca em rosas 'Avant Garde', inoculadas com *Botrytis cinerea* ou não inoculadas, tratadas com ácido giberélico (GA_3), por aspersão, e armazenadas a 20±2 °C / 80±5% UR por até oito dias..... 21

Tabela 5- Variação da massa fresca em rosas 'Avant Garde', inoculadas com *Botrytis cinerea* ou não inoculadas, tratadas com ácido giberélico (GA_3), por *pulsing*, e armazenadas a 20±2 °C / 80±5% UR por seis dias..... 22

Tabela 6- Variação da massa fresca em rosas 'Avant Garde', inoculadas com *Botrytis cinerea* ou não inoculadas, expostas continuamente ao ozônio (O_3), e armazenadas a 20±2°C / 80±-5% UR por até oito dias..... 24

Tabela 7- Variação da massa fresca em rosas 'Avant Garde', inoculadas com *Botrytis cinerea* ou não inoculadas, tratadas sacarose e ácido cítrico (0,15 g L^{-1}), por *pulsing*, e armazenadas a 20±2 °C / 80±5% UR por seis dias..... 26

Tabela 8- Variação da massa fresca em rosas 'Avant Garde', inoculadas com Botrytis cinerea ou não inoculadas, tratadas com sulfato ou cloreto de cálcio, por *pulsing*, e armazenadas a 20±2 °C / 80±5% UR por até oito dias..... 29

Tabela 9- Variação da massa fresca em rosas 'Avant Garde', não inoculadas, tratadas com 1-MCP, e armazenadas a 20±2 °C / 80±5% UR por dois dias ou sob refrigeração (5 °C), por três dias, seguido por transferência para condições ambiente..... 32

Tabela 10- Variação da massa fresca em rosas 'Avant Garde', inoculadas com *Botrytis cinerea*, tratadas com 1-MCP, e armazenadas a 20±2 °C / 80±5% UR por seis dias ou sob refrigeração (5 °C), por três dias, seguido por transferência para condições ambiente..... 32

Tabela 11- Cor da folhagem e das pétalas de hastes de rosa, não inoculadas, tratadas com solução de pulsing contendo ácido giberélico (GA3) e armazenadas a 20±2 °C / 80±5% UR por oito dias..... 34

Tabela 12- Cor da folhagem e das pétalas de hastes de rosa 'Avant Garde', não 36

inoculadas, tratadas com solução de pulsing contendo sacarose e ácido cítrico (0,15 g L-1) e armazenadas a 20±2 °C / 80±5% UR por oito dias.....

Tabela 13- Cor da folhagem e das pétalas de hastes de rosa 'Avant Garde', não inoculadas, tratadas com solução de pulsing contendo sulfato de cálcio e armazenadas a 20±2 °C / 80±5% UR por oito dias..... 37

Tabela 14- Cor da folhagem e das pétalas de hastes de rosa 'Avant Garde', não inoculadas, tratadas com solução de pulsing contendo cloreto de cálcio e armazenadas a 20±2 °C / 80±5% UR por oito dias..... 38

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Sintomas de *Botrytis cinerea* em rosas 'Avant Garde': iniciais (a), lesões necróticas (b) e esporulação (c)..... 4

Figura 2- Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) para incidência e índice de doença do mofo cinzento (*Botrytis cinerea*) em rosas 'Avant Garde', não inoculadas (A e B) e inoculadas (C e D), tratadas em pós-colheita por aspersão de solução contendo ácido giberélico (GA_3) e armazenadas a 20±2 °C / 80±5% UR por até oito dias. *: significativo a 5% de probabilidade. ^{ns}: não significativo..... 19

Figura 3- Área abaixo da curva de progresso da doença para incidência e índice de doença do mofo cinzento (*Botrytis cinerea*) em rosas 'Avant Garde' não inoculadas (A e B) e índice de doença em rosas inoculadas (C), tratadas em pós-colheita com solução de *pulsing* contendo ácido giberélico (GA_3) e armazenadas a 20±2 °C / 80±5% UR por até oito dias. ^{ns} não significativo. 20

Figura 4- Área abaixo da curva de progresso da doença para incidência e índice de doença do mofo cinzento (*Botrytis cinerea*) em rosas 'Avant Garde', não inoculadas (A) ou inoculadas artificialmente (B), expostas continuamente ou não ao ozônio e armazenadas a 20±2 °C / 80±5% UR por até oito dias... 23

Figura 5- Número de conídios de *Botrytis cinerea* em rosas 'Avant Garde', não inoculadas artificialmente, expostas ou não ao ozônio (2,7 ppm), e armazenados a 20±2 °C / 80±5% UR por oito dias..... 23

Figura 6- Área abaixo da curva de progresso da doença para incidência e índice de doença do mofo cinzento (*Botrytis cinerea*) em rosas 'Avant Garde' não inoculadas (A) e índice de doença em rosas inoculadas artificialmente (B), tratadas em pós-colheita com solução de *pulsing* contendo sacarose e ácido cítrico (0,15 g L^{-1}) e armazenadas a 20±2 °C / 80±5% UR por até seis dias. ^{ns}: não significativo..... 26

Figura 7- Área abaixo da curva de progresso da doença para incidência e índice de doença do mofo cinzento (*Botrytis cinerea*) em rosas 'Avant Garde' não inoculadas, tratadas em pós-colheita com cloreto de cálcio, por *pulsing* (A e B) ou sulfato de cálcio (D), armazenadas a 20±2 °C / 80±5% UR durante seis dias, e para índice de doença em rosas inoculadas artificialmente e tratadas em pós-colheita com cloreto de cálcio, por *pulsing* (C)..... 28

Figura 8- Área abaixo da curva de progresso da doença para incidência e índice de doença do mofo cinzento (*Botrytis cinerea*) em rosas 'Avant Garde', não inoculadas (A e B) e inoculadas (E e F), tratadas com 1-MCP por 15 h e armazenadas a 20±2°C / 80±5% UR, por até seis dias, e para incidência e índice de doença em rosas não inoculadas (C e D) e inoculadas (G e H), tratadas com 1-MCP por 15 h e armazenadas sob refrigeração (5 °C) por três dias, seguido por transferência para 20±2°C / 80±5% UR, por até seis dias 30

Figura 9- Abertura floral de rosas ‘Avant Garde’ armazenadas sob condições ambiente (20±2 °C / 80±5% UR) por 8 dias, utilizando-se escala de notas descrita por CAPDEVILLE et al. (2003)..... 33

Métodos alternativos no controle do mofo cinzento em rosas 'Avant Garde'

RESUMO

As doenças pós-colheita têm importância fundamental na floricultura, visto que o comércio interno e principalmente o externo rejeitam qualquer tipo de lesão na haste floral. O mofo cinzento, causado por *Botrytis cinerea*, é considerado a principal doença de flores em cultivo protegido. Este trabalho teve por objetivo avaliar os efeitos do agente de controle biológico *Trichoderma harzianum*, aliado ou não ao cloreto de cálcio, aplicados em campo, e da aplicação pós-colheita de ácido giberélico, sacarose, cálcio, 1-metilciclopropeno (1-MCP) e ozônio, em rosas não inoculadas e inoculadas artificialmente com suspensão de conídios de *B. cinerea* (10^4 conídios mL^{-1}), no controle do mofo cinzento e no aumento da longevidade pós-colheita de rosas 'Avant Garde'. Após os tratamentos, as hastes foram mantidas sob condições ambiente (20±2 °C / 80±5% UR). As hastes foram avaliadas quanto à incidência e a severidade do mofo cinzento, variação de massa, cor de pétalas e de folhagens e abertura floral. Os dados obtidos nos experimentos foram submetidos à análise de variância e comparados pelos testes de Tukey e a discussão dos resultados foi efetuada a 5% de significância. O ácido giberélico (GA_3), aplicado por aspersão nas concentrações de 25, 50 e 75 mg L^{-1}, reduziu em 41, 40 e 54%, respectivamente, a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) para incidência do mofo cinzento em relação às flores controle, somente em rosas com infecções provenientes do campo. A sacarose, aplicada através da solução de *pulsing* a 40 g L^{-1}, reduziu em 30% e 42% a AACPD para incidência e índice de doença, respectivamente, em relação às hastes controle. O ozônio (2,7 ppm), aplicado continuamente em rosas não inoculadas (infecções provenientes do campo), reduziu em 14 vezes a esporulação de *B. cinerea* em relação às hastes controle. Tanto a exposição contínua ao ozônio quanto a aspersão de solução contendo GA_3 e o *pulsing* contendo sacarose não influenciaram a variação de massa, a cor de pétalas e folhagens e a abertura floral das rosas. A aplicação pré-colheita de *Trichoderma harzianum*, aliado ao cloreto de cálcio aplicado um dia antes da colheita, bem como o cálcio e o 1-MCP, aplicados em pós-colheita, não reduziram a incidência e a severidade do mofo cinzento em rosas. Estes resultados indicam que a sacarose, o GA_3 e o ozônio contribuem para o controle do mofo cinzento em pós-colheita de rosas, podendo ser empregados no manejo integrado da doença.

Palavras Chave: *Rosa hybrida*, *Botrytis cinerea*, *Trichoderma harzianum*, pós-colheita, 1-MCP, ozônio, ácido giberélico, sacarose.

Alternative methods to gray mould control of 'Avant Garde' cut roses

ABSTRACT

Postharvest diseases have fundamental importance on floriculture, since internal and international commerce decline any kind of lesion on inflorescence. Gray mold, caused by *Botrytis cinerea* is a major disease in flowers grown in greenhouses. The goal of this study was to evaluate the effects of a biological control agent (*Trichoderma harzianum*), combined or not with calcium chloride, applied on pre-harvest for disease control and on vase life of cut roses. On postharvest, pulse solutions (sucrose, gibberellic acid, sulphate and calcium chloride), ozone, and 1-MCP were evaluated for gray mold control and vase life of cut roses. It was utilized roses artificially inoculated with *B. cinerea* (10^4 conidia mL^{-1}) and flowers did not inoculate. After treatments, roses were storage under room condition (20±2 °C / 80±5% RH). Flowers were checked for gray mold incidence and severity, weight variation, petals and leaves color, and floral opening. Statistical significance was determined by using analysis of variance and Tukey test at 5% probability level. Spraying of gibberellic acid (GA_3) at 25, 50, and 75 mg L^{-1} was effective on reducing the area under the disease progress curve (AUDPC) in 41, 40 and 54% for gray mold incidence only on roses with quiescent infection (did not artificially inoculated). Sucrose pulse solution at 40 g L^{-1} reduced on 30% and 42% the AUDPC for gray mould incidence and disease index, respectively, when compared to control flowers. Continuous application of ozone (2.7 ppm) inhibited the sporulation of *B. cinerea* (about 14-folds). These treatments did not alter weight variation, color, and floral opening. Pre-harevest aplication of *T.* harzianum, with or without calcium chloride sprays one day before harvest, calcium, and 1-MCP did not control gray mould in roses. These results showed that sucrose pulse, GA_3 sprays, and ozone contribute to postharvest gray mold control in cut roses and can be utilized on integrated disease management.

Key Words: *Rosa hybrida*, *Botrytis cinerea*, *Trichoderma harzianum*, postharvest, 1-MCP, ozone, gibberellic acid, sucrose.

1 INTRODUÇÃO

A rosa (*Rosa hybrida* L.) está entre as flores mais comercializadas e apreciadas no mundo, sendo a flor de corte mais produzida para exportação, com movimentação anual mundial de 10 bilhões de dólares (ARAÚJO et al., 2005; GUTERMAN et al., 2002; MORANDI et al., 2003). A floricultura brasileira movimentou no mercado interno cerca de 1,7 bilhões de dólares em 2007 (JUNQUEIRA & PEETZ, 2008). As exportações de flores e plantas ornamentais atingiram, em 2001, 13,2 milhões de dólares e, em 2007, 35,3 milhões de dólares, representando um crescimento de 167% (BRASIL, 2008; KYUNA et al., 2008; JUNQUEIRA & PEETZ, 2002). No Brasil, a produção estimada anual de rosas é de 36 milhões de hastes (BARBOSA et al., 2005).

A qualidade de rosas traduz-se como a longevidade pós-colheita, destacando-se os atributos cor e diâmetro da flor, coloração da folhagem e comprimento da haste. Estas características podem ser influenciadas pela variedade, pelo manejo pré-colheita, bem como pelo uso de técnicas de conservação pós-colheita (AKI, 2008; VIRADIA & SINGH, 2004).

Entre os principais problemas que a floricultura brasileira tem que superar está o manejo pós-colheita inadequado. Ainda faltam conhecimentos e tecnologias de colheita e pós-colheita que visem à redução de perdas, que no Brasil chegam atingir 40% da produção (DIAS-TAGLIACOZZO & CASTRO, 2002).

A expansão da exportação e o aumento da vida de vaso das rosas estão condicionados, entre outros fatores, à redução da incidência de podridões em pós-colheita, destacando-se o mofo cinzento, causado por *Botrytis cinerea*. As perdas econômicas estão associadas ao desenvolvimento de sintomas do mofo cinzento em flores colhidas, nos locais onde o patógeno estava quiescente no momento da colheita.

Atualmente, os métodos empregados para o controle do mofo cinzento são baseados nas boas práticas agrícolas, através da remoção de restos de cultura, nas práticas culturais, que visam melhorar a aeração e reduzir a umidade relativa nos canteiros de produção, e na aplicação de fungicidas registrados para a cultura. No entanto, esses métodos não se mostram eficientes devido à insenbilidade de cepas do patógeno ou falhas de aplicação. Aliado à crescente preocupação dos consumidores com resíduos ambientais, às restrições governamentais impostas e ao pequeno número de produtos registrados para a cultura, a demanda por pesquisas sobre métodos alternativos para o controle de doenças tem aumentado.

Entre os métodos alternativos que já foram experimentalmente estudados para o controle do mofo cinzento e aumento da longevidade de plantas ornamentais, estão o agente de controle biológico *Trichoderma harzianum*, as soluções de *pulsing* contendo ácido giberélico, sacarose e o íon cálcio, além de inibidores ou degradadores do etileno, como o 1-metilciclopropeno (1-MCP) e o ozônio, respectivamente. O *T. harzianum*, segundo PAULITZ & BELANGER (2001), compete por nutrientes e interfere na produção de enzimas líticas pelo *B. cinerea*, além de atrasar a germinação dos conídios e prevenir a penetração do tecido hospedeiro e o processo de maceração dos tecidos. A associação do controle biológico ao fungicida e ao cloreto de cálcio, visa um efeito aditivo no controle da doença. As soluções de *pulsing* atuam, principalmente, aumentando a longevidade de flores de corte e, assim, podem inibir indiretamente o desenvolvimento da doença, já que *B. cinerea* se desenvolve, preferencialmente, em tecidos senescentes. Por sua vez, o 1-MCP atrasa a senescência de tecidos vegetais e, consequentemente, inibe o desenvolvimento do mofo cinzento, enquanto o ozônio é um reconhecido agente fungistático e/ou fungicida.

Devido a relevância do mofo cinzento na cadeia de produção de rosas de corte e à necessidade de novos métodos de controle para esta doença, este trabalho teve por objetivo avaliar os efeitos do agente de controle biológico *T. harzianum*, aliado ou não ao cloreto de cálcio, aplicados em campo, e da aplicação pós-colheita de ácido giberélico, sacarose, cálcio, 1-MCP e ozônio, no controle do mofo cinzento e no aumento da longevidade pós-colheita de rosas 'Avant Garde'.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 *Botrytis cinerea*

As doenças pós-colheita têm importância fundamental na floricultura, visto que o comércio interno e principalmente o externo rejeitam qualquer tipo de lesão na inflorescência. No Brasil e em outros países produtores, há poucos estudos sobre doenças pós-colheita em flores. A doença causada pelo fungo *Botrytis* sp. é, provavelmente, a mais comum e mundialmente distribuída em vegetais, ornamentais e frutas, além de ser a doença mais importante em cultivos protegidos por estufas (AGRIOS, 2004).

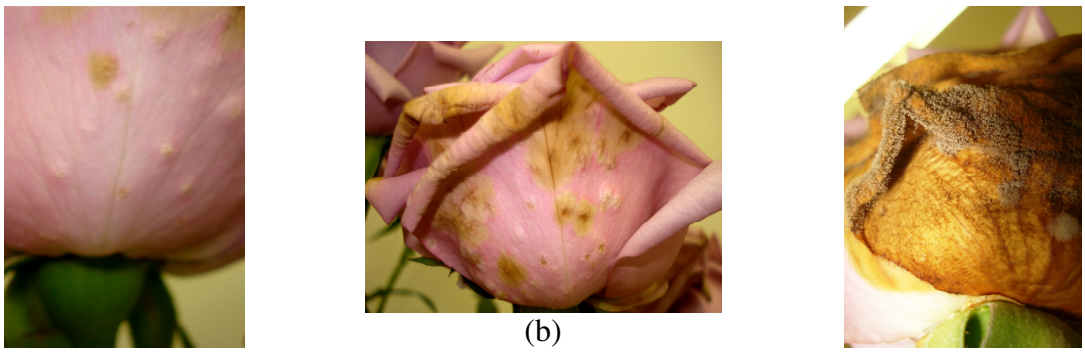
Grande parte das rosas produzidas no Brasil é cultivada sob estufa. Nestas condições o fungo *Botrytis cinerea* Pers.:Fr. (Teliomorfo: *Botryotinia fuckeliana* de Bary,

Whetz), agente causal do mofo cinzento, é uma das principais causas de perdas, tanto em pré quanto em pós-colheita, de rosas produzidas nos Estados de São Paulo e Minas Gerais (MORANDI et al., 2003; TATAGIBA et al., 1998). As perdas econômicas estão associadas ao desenvolvimento de sintomas da doença em flores colhidas, nos locais onde o patógeno estava quiescente no momento da colheita (TATAGIBA et al., 1998). A infecção das pétalas reduz o valor ornamental e comercial das hastes e pode ser a razão do total colapso da flor (DROBY & LICHTER, 2007).

O *B. cinerea* é um patógeno necrotrófico que pode exibir quiescência durante seu desenvolvimento, o qual pode ser dividido em duas fases, uma não agressiva e invisível a olho nu e outra agressiva e de rápida expansão. Este fungo tem crescimento e esporulação abundantes em temperaturas moderadas, sendo ativo até a 0 °C, tornando-o um patógeno importante durante o armazenamento do produto e um desafio para o manejo da doença. A esporulação abundante e a dispersão dos conídios pelo ar são uma constante ameaça para as culturas susceptíveis (ELAD & STEWART, 2007).

A quiescência torna o *B. cinerea* não detectável durante a colheita; assim flores visualmente saudáveis são armazenadas e transportadas em condições favoráveis ao desenvolvimento do fungo (DROBY & LICHTER, 2007). Porém, quando os sintomas são observados no campo, é possível fazer uma seleção prévia, descartando as inflorescências infectadas (COELHO & TERAO, 2006).

Os sintomas causados por *B. cinerea* em rosas incluem descoloração marrom ou acinzentada, lesões aquosas, com micélio cotonoso cinza claro ou bronzeado que cresce nos tecidos afetados, sendo restrito às lesões; os sintomas iniciais do mofo cinzento em pétalas de rosa 'Avant Garde' caracterizam-se por lesões bem definidas (pequenas bolhas), de coloração mais clara (Figura 1a), que se tornarão necróticas à medida que a doença avança (coloração marrom) (Figura 1b). A esporulação é visível em pétalas apresentando sintomas avançados (Figura 1c), tornado-se importante fonte de inóculo para próximos ciclos da doença (DROBY & LICHTER, 2007). A rápida morte celular (resposta de hipersensibilidade) dos tecidos atacados por *B. cinerea* favorece o desenvolvimento do patógeno devido ao seu hábito necrotrófico, ou seja, aumentando a susceptibilidade do tecido à infecção (GOVRIN & LEVINE, 2000).



(a) (b) (c)

Figura 1 – Sintomas de *Botrytis cinerea* em rosas 'Avant Garde': iniciais (a), lesões necróticas (b) e esporulação (c).

Um aspecto importante na interação Rosa-*Botrytis* é a relação entre a senescência dos tecidos e o desenvolvimento da doença (ELAD, 1988a; SRIVASTAVA 2002). O aumento na susceptibilidade dos tecidos está ligado ao envelhecimento das células, relacionado ao etileno e ao ácido abscísico e à elevação dos níveis de radicais livres no tecido do hospedeiro. (ELAD, 1997). A senescência representa o último estádio do desenvolvimento floral e resulta na murcha ou abcisão da flor ou de suas partes. Este é um processo ativo e desencadeado pelo etileno, que permite a abertura floral e a mobilização das reservas metabólicas dos tecidos das pétalas e folhas (KUMAR et al., 2008). A produção de etileno pode ser natural ou estimulada através de injúrias físicas ou presença de patógenos. O etileno tem a capacidade de acelerar o desenvolvimento de sintomas e predispor as flores à infecção e ao desenvolvimento do *B. cinerea*. As flores infectadas mostram elevada produção de etileno, o que acelera o desenvolvimento da doença e a senescência dos tecidos e reduz a vida de vaso da flor (CZARNY et al., 2006; ELAD, 1988a).

2.2 Métodos De Controle Convencionais

A sanitização, através da remoção de restos de cultura, as práticas culturais, que visam melhorar a aeração e a redução da umidade relativa nos canteiros, e o controle químico são as principais recomendações para reduzir as infecções na produção comercial (DROBY & LICHTER, 2007). Estas medidas devem ser utilizadas em conjunto, porém dentre estas a mais utilizada é o controle químico através de pulverizações pré-colheita (VOLPIN & ELAD, 1991). Em virtude de algumas flores ainda estarem fechadas no momento do tratamento e se desenvolverem e iniciarem a abertura antes da próxima pulverização (DROBY & LICHTER, 2007), o sistema pode apresentar baixa eficiência. Outro fator que contribui para a baixa eficiência de controle do mofo cinzento é o rápido desenvolvimento de insensibilidade do

fungo aos ingredientes ativos aplicados (MORANDI et al., 2000).

Apesar destas constatações, a utilização de fungicidas ainda é a principal medida para o controle deste fitopatógeno (DROBY & LICHTER, 2007). Segundo o relatório de pragas e doenças do sistema AGROFIT (2010), existem seis ingredientes ativos registrados para o controle de *B. cinerea* em rosas, sendo todos eles registrados para aplicação em campo. No entanto, seu uso é atualmente questionado, devido à resistência de cepas do patógeno ou falhas de aplicação, à preocupação dos consumidores com resíduos ambientais, às restrições governamentais impostas através da retirada de produtos do mercado e ao pequeno número de produtos registrados para a cultura. Estes fatores têm levado ao aumento de pesquisas para redução do uso de fungicidas através do desenvolvimento de métodos alternativos de controle (PAULITZ & BÉLANGER, 2001).

2.3 Métodos Alternativos De Controle

2.3.1 Agentes de controle biológico

O controle biológico, através do uso de microrganismos antagonistas, vem sendo bastante investigado visando melhorar a eficiência de controle do mofo cinzento, causado por *B. cinerea* em frutas, vegetais e plantas ornamentais (YOHALEM, 2004; SUTTON et al., 1997), além de ser uma forma de controle que evita os riscos ocupacionais associados à exposição dos trabalhadores aos fungicidas e de resíduos destes nos produtos colhidos e no ambiente (SUTTON et al., 1997). Há também mercados que demandam por rosas sem aplicação de fungicidas (HOUSBECK & MOORMAN, 1996). Neste sentido, alguns microrganismos têm sido testados com sucesso para o manejo pré-colheita da doença nos campos e estufas, como o fungo saprofítico, não patogênico, *Trichoderma harzanium* Rifai [sin. *Trichoderma inhamatum* Veerkam & W. Gams; teleomorfo *Hypocrea lixi* Pat.], o qual foi selecionado como um antagonista contra *B. cinerea* (ELAD et al., 1995; BELANGER et al., 1995; YOHALEM, 2004). O modo de ação do fungo contra o patógeno é explicado pela competição por nutrientes e pela interferência na produção de enzimas líticas pelo patógeno, além de atrasar a germinação dos conídios e prevenir a penetração do tecido hospedeiro e o processo de maceração dos tecidos (PAULITZ & BELANGER, 2001). SWARTZBERG (2008) estudou a influência do *T. harzianum* nos processos de senescência em rosas e observou que este fungo atrasa a morte dos tecidos, dificultando o desenvolvimento de fungos necrotróficos, como *B. cinerea*.

Em virtude dos efeitos negativos ao ambiente, há tendência em se reduzir a quantidade de fungicidas aplicados. A integração de doses sub-letais com alguns fungos antagonistas, como *Trichoderma* spp., que são resistentes a altas doses de fungicidas, é uma

maneira bastante atrativa para reduzir a quantidade de fungicidas aplicados na cultura (ROBERTI et al., 2006). A aplicação alternada (a cada 7 dias) de *T. harzanium* e iprodione reduziu a incidência do mofo cinzento em tomates quando comparado à aplicação dos agentes separadamente (ELAD et al., 1995). O conhecimento da compatibilidade fungicida-agente de controle biológico é essencial para o sucesso destas combinações (ELAD & STEWART, 2007).

2.3.2 1-MCP

Foi demonstrado que inibidores da produção ou ação do etileno reduziram a incidência e a severidade do mofo cinzento em alguns produtos, incluindo rosas (KOUKOUNARAS & SFAKIOTAKIS, 2007; ELAD, 1988b). SMITH et al. (1964) observaram que flores de cravo infectadas por *B. cinerea* produziam mais etileno e que o etileno predispôs as flores a apresentar novas lesões do fungo; por outro lado, a aplicação de um bloqueador da ação do etileno (tiossulfato de prata - STS) ou de um inibidor da biossíntese de etileno (ácido aminooxiacético - AOA) reduziu a severidade da doença. CAPDEVILLE et al. (2003), usando STS, constataram o aumento da vida pós-colheita e a redução da severidade e da incidência do mofo cinzento em rosas. No entanto, os autores citam que o STS, por conter metal pesado (Ag), além de tóxico às plantas, pode contaminar o ambiente.

O 1-Metilciclopropeno (1-MCP) é um bloqueador da ação do etileno, que tem por objetivo retardar a senescência em flores e frutas (BLANKENSHIP & DOLE, 2003; SRIVASTAVA, 2002), e tem-se mostrado eficiente no prolongamento da vida pós-colheita e no controle de podridões. O 1-MCP (C_4H_6) é um gás que compete com o etileno pelos sítios de ligação nos receptores das membranas, podendo retardar ou inibir eventos da maturação (amadurecimento e senescência) e, assim, reduzir o desenvolvimento de podridões durante o armazenamento (REID & ÇELIKEL, 2008; TERAO & SILVA, 2006). A ação do etileno exógeno foi bloqueada pela aplicação de 1000 nL L^{-1} de 1-MCP por 2 h a 22 °C em rosas 'First Red' (CHAMANI et al., 2005) ou de 20 nL L^{-1} por 6 h a 20 °C em cravos, inibindo a murcha característica (SEREK et al., 1995). CHAMANI et al. (2005) mostraram que em ambiente livre de etileno o uso do STS (0,5 mM por 2 h) aumentou a vida de vaso de rosas 'First Red' em 7 dias em relação ao controle não tratado. SEGLIE et al. (2010) testaram uma formulação não volátil do 1-MCP, o N,N-dipropil(1-ciclopropenilmetil)amina (DPCA), em cravos, pelargônio, rosa e *Phalaenopsis* e obtiveram o mesmo efeito bloqueador do etileno. ÇELIKEL et al. (2002) recomendaram o tratamento de lírio com 500 nL L^{-1} de 1-MCP por 18 h para prevenir danos causados pelo etileno nos ambientes de venda e ainda sugerem um

tratamento adicional com Promalin (ácido giberélico 4 e 7 + benziladenina) para as plantas que serão armazenadas ou transportadas a longa distância. O 1-MCP pode ser usado em doses e tempos de aplicação menores quando aplicado à temperatura ambiente (20 °C). REID et al. (2001) relataram que para o tratamento de cravos (*Dianthus caryophyllus*), em caminhões refrigerados, utiliza-se a concentração de 800 µL L^{-1} por 24 h enquanto que, sob temperatura ambiente, o mesmo efeito inibidor do enrolamento das pétalas é obtido com 50 µL L^{-1} por 6 h. A Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (EPA) aprovou o uso do 1-MCP em plantas ornamentais e não há riscos associados à sua aplicação ou exposição (ESTADOS UNIDOS, 1999).

2.3.3 Ozônio

O ozônio (O_3) vem sendo estudado visando o aumento da longevidade de frutas, hortaliças e ornametais, por atrasar a senescência dos tecidos. O O_3 é uma molécula altamente reativa gerada eletricamente por ozonizadores. A rápida reação entre o ozônio e o etileno é um fenômeno conhecido (DICKSON et al., 1992); assim, quando presente, o O_3 degrada o etileno presente no ambiente e reduz o efeito desencadeador da senescência em tecidos vegetais pela mitigação de sua presença na atmosfera de armazenamento. KRAUSE & WEIDENSAUL (1978) aplicaram 0,15 e 0,30 ppm de O_3 por 6 h em plantas de pelargônio inoculadas com *B. cinerea* e observaram redução visível da esporulação com o aumento da dose de ozônio. Estes autores também observaram reduções da área lesionada de folhas destacadas de pelargônio inoculadas com *B. cinerea* e do desenvolvimento *in vitro* de *B. cinerea*, quando exposto ao O_3, além da ausência de germinação de conídios. Estudos demonstraram que a exposição ao O_3 reduziu o desenvolvimento de *B. cinerea* em morangos (NICOUE, 2004) e cenouras (HILDEBRAND, 2008). SMILANICK (2003) recomenda o uso de geradores de ozônio durante o armazenamento de *commodities* que sejam sensíveis ao etileno.

2.3.4 Ácido Giberélico (GA_3)

Outra substância que tem mostrado efeitos significativos sobre o atraso da senescência dos tecidos é um regulador de crescimento, o ácido giberélico (GA_3), que suprimiu o desenvolvimento de *B. cinerea* em rosas 'Mercedes'(GOSZCZYNKA et al., 1990). O GA_3 inibe os processos de aumento da permeabilidade da membrana celular relacionados à senescência, reduzindo o extravasamento de nutrientes do tecido, podendo causar um aumento na produção de compostos fenólicos que inibem o crescimento de *B. cinerea* (SHAUL et al., 1995). Ao estimular a formação de compostos fenólicos, através da aplicação de GA_3, há redução do desenvolvimento do patógeno (ZIESLIN et al., 2007).

Outros efeitos do GA_3 que podem levar a uma menor susceptibilidade ao *Botrytis* são a menor solubilidade da pectina, a redução da atividade da poligalacturonase e da evolução da produção de etileno (ELAD, 1997).

SHAUL et al. (1995) observaram que o GA_3 não influenciou o crescimento *in vitro* do *B. cinerea*; portanto, o controle do mofo cinzento em botões de rosa tratados por aspersão e pétalas de rosa destacadas e pinceladas com solução de GA_3 podem ser atribuídos a alguns fatores, como a inibição do processo de senescência, à indução de mecanismos de defesa em resposta à infecção e à inibição da atividade enzimática associada à infecção. Estes autores, aplicando 346 mg L^{-1} de GA_3 em hastes de rosa 'Mercedes', por aspersão, observaram redução significativa do índice de doença de "4" e "5", no 9° e 11° dia após inoculação artificial, respectivamente, para <"1" nas hastes tratadas.

2.3.5 Sacarose

Entre os métodos alternativos de controle que podem ser empregados em pós-colheita para o aumento do período de conservação de rosas e manejo do mofo cinzento está o uso da sacarose associada ao ácido cítrico, do sulfato ou cloreto de cálcio e do ácido salicílico, que adicionados às soluções de *pulsing* podem reduzir os danos causados por *B. cinerea*. O termo *pulsing* tem sido usado por pesquisadores para descrever a técnica em que as hastes das flores são imersas em soluções contendo produtos químicos que irão saturar os tecidos, via xilema, com substâncias que possam atrasar a senescência e aumentar a vida de vaso das flores (CAPDEVILLE et al., 2003). Os mesmos autores comentam que há poucas pesquisas sobre os efeitos do ácido cítrico sobre a severidade do mofo cinzento em rosas ou outras espécies. Segundo NOWAK & RUDNICKI (1990), o ácido cítrico atua na redução do pH da água e, conseqüentemente, pela redução da proliferação de bactérias, que bloqueiam os vasos do xilema na região do corte e interfere com o fluxo normal de água através da haste. Por sua vez, a sacarose tem sido usada para aumentar a vida de vaso de algumas flores. DIAS-TAGLIACOZZO et al. (1998) observaram a diminuição da perda de massa e maior longevidade de hastes de lírio (*Lilium longiflorum*) com o aumento da concentração de sacarose na solução de *pulsing*. FINGER et al. (1999) relataram o aumento da longevidade de flores de ave-do-paraíso (*Strelitzia reginae*) em 55% com tratamento de *pulsing* de 40 g L^{-1} de sacarose. O açúcar fornece energia para os processos celulares fundamentais, como a manutenção da estrutura e função da mitocôndria e outras organelas, além de ajudar na regulação do fluxo de água e minerais para os vasos do xilema através do controle da transpiração (NOWAK & RUDNICKI, 1990). CAPDEVILLE et al (2003) ressaltam a importância e a escassez das pesquisas utilizando-se sacarose, em associação ou não com

outras substâncias, para o controle de doenças. ICHIMURA & HISAMATSU (1999) ao aplicar 50 g L^{-1} de sacarose juntamente com 200 mg L^{-1} de 8-hidroquixiquinolina (8-HQC) em inflorescências de boca de leão, observaram redução da produção de etileno, e constataram que as flores tratadas não mostraram redução na quantidade de glicose e frutose nas pétalas, além de apresentaremcinco dias a mais de vida de vaso que as inflorescências controle; além da manutenção do balanço hídrico proporcionado às inflorescências tratadas com sacarose, o fornecimento deste açúcar reduziu a produção de etileno e também colaborou com a extenção da vida de vaso. A associação de sacarose e ácido cítrico foi testada por PEREIRA & DIAS-TAGLIACOZZO (2007) com sucesso para substituir o uso da solução comercial Flower® para conservação de rosas 'Vegas'. Por outro lado, CAPDEVILLE et al. (2003) relataram que o condicionamento de rosas em soluções de sacarose não reduziu a severidade do mofo cinzento, indicando, porém, que a possível combinação de sacarose e ácido cítrico poderia ter efeitos benéficos para o controle da doença. SINGH et al. (2004) não obtiveram aumento na longevidade pós-colheita de rosas 'Kiss' com a aplicação de ácido cítrico (1 a 5 g L^{-1}) através da solução de *pulsing*.

2.3.6 Cálcio

O íon cálcio tem-se mostrado promissor no controle de *B. cinerea* quando utilizado em diferentes formulações, como sulfato ($CaSO_4$), cloreto ($CaCl_2$), ou nitrato ($CaNO_3$) e formas de aplicação, como pulverizações pré ou pós-colheita ou através da adubação (VOLPIN & ELAD, 1991).O cálcio, segundo TORRE et al. (1999), exerce influencia sobre o efeito do etileno na permeabilidade da membrana celular, através da inibição da perda de íons, reduzindo, desta forma, a ação do deste regulador vegetal sobre a senescência das membranas. O fungo *B. cinerea* produz oxalato, que contribui para a patogênese através do sequestro do cálcio presente na parede celular e pela ligação com o Ca^{2+} presente no citoplasma, impedindo a sinalização devida ao ataque do patógeno e acelerando a maceração dos tecidos (LYON et al., 2007).

Ao incubar conídios de *B. cinerea* em meios enriquecidos com $CaCl_2$ houve decréscimo do comprimento do tubo germinativo e da germinação de esporos com o aumento da concentração deste sal (CHARDONNET et al., 2000). WISNIEWSKI et al. (1995) avaliaram o efeito do íon cálcio sobre o crescimento *in vitro* de *B. cinerea* e de *Candida oleophila*, utilizado como agente de biocontrole, e concluíram que este íon inibe a germinação de conídios e o alongamento do tubo germinativo de *B. cinerea*, mas a presença de cálcio não afetou o crescimento de *C. oleophila*. Assim, o agente de biocontrole pode ser favorecido pela aplicação de cloreto de cálcio através da inibição da germinação dos conídios de *B. cinerea*.

Em doenças causadas por *B. cinerea* a susceptibilidade pode ser influenciada diretamente pelo cálcio através da maior resistência da pectina ou indiretamente pela inibição da ação da poligalacturonase e outras enzimas pécticas, reduzindo a habilidade do patógeno em degradar componentes da lamela média e da parede celular do hospedeiro (VOLPIN & ELAD, 1991). Tecidos contendo maior teor de cálcio geralmente têm menor susceptibilidade ao mofo cinzento (DIK & WUBBEN, 2007), porém a absorção de cálcio via solução nutritiva é passiva, ou seja, dependente da taxa de transpiração; assim, altos teores de Ca^{2+} no solo ou em solução nutritiva não garantem altos teores de cálcio nos tecidos (YUNIS et al., 1990) e, desta forma, a redução da suscetibilidade ao patógeno.

VOLPIN & ELAD (1991) demostraram que roseiras contendo maior teor de cálcio nos tecidos produziram de 50 a 95% menos etileno que as plantas controle. CAPDEVILLE et al. (2005), estudando os efeitos da aplicação de sulfato de cálcio em diferentes concentrações e esquemas de aplicações em pré-colheita de rosas, observaram bons resultados com a aplicação de 10 e 20 mM do produto, 24 h antes da colheita. A aplicação de cálcio [$Ca(NO_3)_2$ ou $CaCl_2$] através da solução nutritiva (VOLPI & ELAD, 1991), por pulverizações pré-colheita (CAPDEVILLE et al., 2005) ou na solução de *pulsing* (CAPDEVILLE et al., 2003; VOLPIN & ELAD, 1991), reduziram a severidade das infecções causadas por *B. cinerea* e aumentaram a vida de vaso de rosas.

2.4 Armazenamento Refrigerado

No armazenamento pós-colheita de frutas, hortaliças e ornamentais, o manejo da temperatura é tão importante no controle de doenças pós-colheita que todos os outros métodos têm sido descritos como complementares à refrigeração. A refrigeração é o processo mais indicado para prolongar a vida pós-colheita de produtos vegetais, bem como para suprimir o desenvolvimento de podridões (BENATO et al., 2001). Baixas temperaturas inibem o desenvolvimento de muitos microrganismos; por exemplo, temperaturas inferiores a 10 °C inibem o desenvolvimento de *Colletotrichum*, *Aspergillus* e *Phytophthora*, porém *B. cinerea* se desenvolve, ainda que lentamente, a 0 °C. Outros fungos podem causar podridões a 0 °C, como *Alternaria alternata* e *Monilinia fructicola* (KADER, 1992).

A temperatura está entre os principais fatores que influenciam a qualidade pós-colheita de flores de corte. A refrigeração é o método mais econômico para o armazenamento por longo período, e os demais métodos, tornam-se mais eficientes quando suplementados pelas baixas temperaturas (DIAS-TAGLIACOZZO & MOSCA, 2007; CASTRO, 1984). O armazenamento refrigerado proporciona aumento da longevidade pós-colheita, pois reduz a respiração, produção de etileno e a perda de água, além de inibir o crescimento de

microorganismos como fungos e bactérias (NOWAK & RUDNICKI, 1990). Segundo REID (2004), a temperatura recomendada para o armazenamento prolongado de rosas é de 0 a 1 °C.

Segundo CAPDEVILLE et al. (2003), o tratamento pós-colheita de rosas com substâncias que reduzem a senescência das flores é eficiente para aumentar a vida de vaso e reduzir os danos causados por patógenos, como o *B. cinerea*, que colonizam tecidos senescentes. No entanto, os autores ressaltam a necessidade de se combinar o uso destas substâncias com tratamentos em pré-colheita com a finalidade de se obter um efeito aditivo para um controle satisfatório da doença.

Desta maneira, o objetivo deste trabalho foram avaliar os efeitos de diferentes métodos alternativos (controle biológico, soluções conservantes atóxicas, GA_3, 1-MCP e O_3), aplicados em pré ou pós-colheita no controle do mofo cinzento e no aumento da longevidade pós-colheita de rosas.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Tecnologia Pós-Colheita do CAPTA de Engenharia e Automação do Instituto Agronômico, em Jundiaí/SP, e em uma produção comercial de rosas localizada em Andradas/MG (22º04'05"S e 46º34'04"W, altitude: 920 m).

3.1 Obtenção Do Isolado De *Botrytis cinerea*

O isolado de *B. cinerea* foi obtido a partir de hastes de rosa apresentando sintomas típicos do mofo cinzento, provenientes de produção comercial situada em Andradas/MG e outra em Atibaia/SP. A coleta foi realizada nos meses de janeiro de 2008 (Andradas) e de 2009 (Atibaia).

Foi utilizado o método de isolamento indireto (ALFENAS et al., 2007), em que pequenos cortes foram realizados na região da borda das lesões (entre tecido sadio e lesionado) e desinfestados superficialmente através da submersão em álcool 70% por 1 min, seguido de transferência para solução 0,1% de hipoclorito de sódio por 1 min e, em seguida, em água destilada esterelizada. Para secagem, os cortes foram transferidos para papel filtro esterelizado. Após este procedimento, os cortes foram plaqueados em meio batata-dextrose-ágar com oxitetraciclina (BDA + oxitetraciclina), repicando-se as colônias formadas para novas placas contendo BDA. As placas foram mantidas em BOD a 20 °C em regime alternado

de luz (12 h luz/ 12 h escuro). Um isolado foi conservado em óleo mineral, segundo GONÇALVES et al. (2007), para futuros trabalhos.

3.2 Preparação Da Suspensão De Conídios De *Botrytis Cinerea*

A suspensão de conídios foi preparada através da lavagem de placas cultivadas com *B. cinerea* (20 °C e fotoperíodo de 12 h) com 10 a 20 dias de idade, com água destilada esterelizada, seguido de filtração da suspenção em duas camadas de gaze. A contagem de conídios foi realizada em câmara de Neubauer e a concentração ajustada para 10^4 conídios mL^{-1}. Antes da pulverização, foi adicionada uma gota de Tween 20® para cada 100 mL da suspensão (0,05% v/v).

3.3 Avaliação De Agentes Alternativos, Aplicados Em Pré-Colheita, No Controle Do Mofo Cinzento (Ensaio I).

O experimento foi realizado em cultivo comercial de rosas 'Avant Garde' produzidas sob estufa, em Andradas/MG (22º04'05"S e 46º34'04"W, altitude: 920 m), apresentando alta pressão de inóculo de *B. cinerea*. O isolado do agente de controle biológico utilizado nos experimentos (*Trichoderma harzianum*) foi obtido através de produto comercial (Tricodermil SC 1306, Itaforte®).

Os experimentos foram conduzidos em delineamento de blocos casualizados, em arranjo fatorial (4x2 – agente de controle biológico e cloreto de cálcio, respectivamente) com quatro repetições, compostas de 15 hastes, que foram previamente marcadas e receberam pulverizações com os tratamentos por pelo menos 5 semanas.

Os produtos foram aplicados segundo o esquema: TR - *Trichoderma harzianum* (Tricodermil SC, 10 mL L^{-1} p.c.), a cada 15 dias; F - fungicida (clorotalonil – Bravonil 500, 3 mL L^{-1} p.c., testemunha comercial), registrado para a cultura e utilizado pelo produtor, a cada 7 dias; TR/F - aplicação alternada (a cada 7 dias) de *T. harzianum* e fungicida; A - água (testemunha absoluta), a cada 7 dias; TR/CC - *T. harzianum* (Tricodermil SC, 10 mL L^{-1} p.c.), a cada 15 dias + cloreto de cálcio (CC, 14,7 g L^{-1}), um dia antes da colheita; F/CC - fungicida (clorotalonil – Bravonil 500, 3 mL L^{-1} p.c.), a cada 7 dias + cloreto de cálcio (CC, 14,7 g L^{-1}), um dia antes da colheita; TR/F/CC - aplicação alternada (a cada 7 dias) de *T. harzianum* e fungicida + cloreto de cálcio (CC, 14,7 g L^{-1}), um dia antes da colheita; A/CC - água (testemunha absoluta), a cada 7 dias + cloreto de cálcio (CC, 14,7 g L^{-1}), um dia antes da colheita.

Os botões, em início de formação, foram previamente identificados e pulverizados ao longo de cinco semanas antes da colheita e transporte para o laboratório.

As hastes provenientes de cada tratamento foram colhidas, transportadas até o

Laboratório de Tecnologia Pós-Colheita, do Centro de Engenharia e Automação (IAC), onde foram mantidas em vaso com água sob condições ambiente (20 ± 2 °C / 80 ± 5% UR) e iluminação constante. As flores foram avaliadas a cada dois dias quanto à variação de massa (%), obtida pela diferença de massa obtida por pesagem em balança semi-analítica Tecnal, modelo B-TEC-2200; cor das pétalas e folhagem, através da leitura em regiões opostas do botão floral, utilizando-se colorímetro HunterLab, modelo Miniscan XE plus, sistema L* a* b*, com duas leituras por flor; para a folhagem, realizou-se a leitura de dois folíolos escolhidos aleatoriamente; incidência (porcentagem de ocorrência) - quantidade de flor(es) exibindo sintomas do mofo cinzento; severidade da podridão - segundo escala descrita por ARAUJO (1995), que varia de 1 a 10, sendo: 1 = 0%, 2 = 1-2%, 3 = 3-5%, 4 = 6-10%, 5 = 11-15%, 6 = 16-25%, 7 = 26-50%, 8 = 51-75%, 9 = 76-99%, 10 = 100%, de área lesionada em cada botão. Os resultados foram expressos em índice de doença através da fórmula:

$$ID(\%) = \frac{[(2.n_2) + (3.n_3) + ... + (9.n_9) + (10.n_{10})].100}{9.N}$$

onde: ID: Índice de doença; n_i: número de flores infectados na respectiva escala de notas; N: número total de flores.

Os dados obtidos nas avaliações de incidência e severidade do mofo cinzento foram utilizados para o cálculo da área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) segundo a fórmula:

$$AACPD = \sum [(y_i + y_{i+1})/2 \times (t_{i+1} - t_i)]$$

onde: AACPD é a área abaixo da curva de progresso da doença; y_i: índice de doença ou incidência no tempo t_i, em dias; y_{i+1}: índice de doença ou incidência no tempo t_{i+1}..

A abertura floral foi avaliada segundo escala de notas descrita na tabela 1.

Tabela 1 – Estádio de abertura floral para rosas (escala de notas). Continua...

Nota	Estágio de abertura floral
0	Haste floral com folíolos verdes e bem hidratados, com sépalas eretas aderidas, até cerca de 2/3 do seu comprimento, com pétalas externas iniciando abertura (ponto de colheita comercial).
1	Haste com folíolos verdes bem hidratados, flor com sépalas iniciando a curvatura e pétalas externas mostrando-se mais abertas. Pétalas intermediárias iniciando abertura.

Fonte: CAPDEVILLE (1997); CAPDEVILLE et al. (2005).

Tabela 1 – Continuação.

2	Haste com folíolos verdes e hidratados, flor com as sépalas quase completamente curvadas. Pétalas externas completamente abertas e iniciando a curvatura dos bordos para fora e pétalas intermediárias bem abertas.
3	Folíolos verdes e hidratados, flor com as sépalas completamente curvadas para baixo. Pétalas externas quase horizontais com os bordos bem curvados, intermediárias abertas e internas iniciando abertura.
4	Folíolos apresentando leve perda de turgidez. Sépalas completamente curvadas para baixo, e pétalas totalmente abertas com estames à mostra.
5	Haste floral exibindo perda generalizada de turgidez e com início de curvatura do pedúnculo.
6	Haste floral totalmente desidratada. Flor morta.

Fonte: CAPDEVILLE (1997); CAPDEVILLE et al. (2005).

3.4 Avaliação De Agentes Alternativos, Aplicados Em Pós-Colheita, No Controle Do Mofo Cinzento. (Ensaio II).

A avaliação de agentes alternativos, aplicados em pós-colheita, compreendeu a aplicação dos seguintes produtos: sacarose + ácido cítrico, sulfato de cálcio, cloreto de cálcio, GA_3 (ácido giberélico), O_3 (ozônio) e 1-MCP (1-metilciclopropeno). Os experimentos foram conduzidos utilizando-se hastes com infecções naturais, provenientes do campo, e repetidos empregando-se hastes inoculadas artificialmente com suspensão de *B. cinerea* (10^4 conídios mL^{-1}), 4 h antes dos tratamentos.

As hastes foram colhidas em ponto comercial (nota "0" da Tabela 1), embaladas e transportadas com a base imersa em água ao Laboratório de Tecnologia Pós-Colheita (CAPTA-CEA/IAC), onde tiveram as pétalas externas e as folhas da base retiradas, sendo dispostas em vasos com água.

Em todos os experimentos, após serem tratadas com os diferentes agentes alternativos, as hastes foram armazenadas sob condições ambiente (20±2 °C / 80±5% UR) e avaliadas, a cada dois dias, quanto à variação de massa, cor de pétalas e folhagens, abertura floral e incidência/severidade do mofo cinzento, segundo os métodos descritos no Ensaio I.

3.4.1 Sacarose + ácido cítrico

As hastes foram colocadas em vasos contendo sacarose a 0, 1, 2, 4 ou 8 g L^{-1}, em associação ao ácido cítrico (0,15 g L^{-1}), pelo período de 15 h, sob condições ambiente. Como testemunha, as hastes foram colocadas em vasos contendo somente ácido cítrico. Antes de serem tratadas, as hastes foram inoculadas com *B. cinerea*. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com quatro repetições e 10 hastes por parcela.

Para as hastes com infecções naturais, provenientes do campo, utilizaram-se as doses de 0 e 40 g L^{-1}, em associação ao ácido cítrico (0,15 g L^{-1}), pelo período de 15 h, sob condições ambiente. Como testemunha, as hastes foram colocadas em vasos contendo

somente ácido cítrico. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com cinco repetições e 15 hastes por parcela.

3.4.2 Sulfato de cálcio

As hastes foram colocadas em vasos contendo sulfato de cálcio a 0, 2, 4 e 8 g L^{-1}, pelo período de 15 h, sob condições ambiente. Antes de serem tratadas, as hastes foram inoculadas com *B. cinerea*. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com quatro repetições e cinco hastes por parcela. Houve dificuldade de dissolução do sulfato de cálcio em água e desta forma foi trocado o sal de cálcio para cloreto de cálcio devido a melhor solubilidade em água.

3.4.3 Cloreto de cálcio

As hastes foram colocadas em vasos contendo cloreto de cálcio a 0, 4, 8 ou 16 g L^{-1}, pelo período de 15 h, sob temperatura ambiente. Utilizaram-se hastes previamente inoculadas, bem como rosas com infecções naturais, provenientes do campo. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com quatro repetições e sete hastes por parcela.

3.4.4 Ácido giberélico (GA_3)

As hastes foram colocadas em vasos contendo GA_3 (VETEC Química Fina Ltda; 90% i.e.) a 0, 25, 50 ou 75 mg L^{-1}, pelo período de 15 h, sob condições ambiente. Utilizaram-se hastes previamente inoculadas, bem como rosas com infecções naturais, provenientes do campo. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com quatro repetições e 10 hastes por parcela (inoculação artificial) ou cinco repetições e 15 hastes por parcela (infecções naturais). O GA_3 também foi aplicado por pulverização das hastes, nas mesmas concentrações, utilizando-se hastes previamente inoculadas e rosas com infecções naturais. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com cinco repetições e 15 hastes por parcela.

3.4.5 Ozônio (O_3)

As hastes foram mantidas em câmara a 20±2 ºC e 80±5% UR e expostas continuamente ao O_3 (2,7 ppm; ozonizador do Grupo Interozone Brasil) durante todo o experimento. Como testemunha, as hastes foram mantidas nas mesmas condições de temperatura e umidade relativa, mas não foram expostas ao O_3. Utilizaram-se hastes previamente inoculadas e rosas com infecções naturais, provenientes do campo. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 10 repetições e seis hastes por parcela.

3.4.6 1-Metilciclopropeno (1-MCP)

As hastes foram mantidas em vasos com água e tratadas em tambores herméticos

com circulação forçada de ar por 15 h a 20 °C com 0, 100 ou 200 nL L^{-1} de 1-MCP, obtido através da dissolução de 0,032 e 0,065 g do produto comercial SmartFresh® em água destilada. Utilizaram-se hastes previamente inoculadas, bem como rosas com infecções naturais, provenientes do campo. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com cinco repetições e 10 hastes por parcela (inoculação artificial) e 15 hastes por parcela (infecções naturais). Após as 15 h, as flores foram retiradas dos tambores e mantidas sob condições ambiente ou refrigeração (5±1 °C / 90±5% UR, 3 dias), quando foram transferidas para condições ambiente e avaliadas a cada dois dias.

3.5 Análise Dos Dados

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e comparados pelo teste de Tukey, sendo a discussão dos resultados efetuada a 5% de significância. Para tanto, foi empregado o programa estatístico SISVAR.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Avaliação De Agentes Alternativos, Aplicados Em Pré-Colheita, No Controle Do Mofo Cinzento. (Ensaio I).

A alta pressão de inóculo no campo foi comprovada pela presença de sintomas (incidência) em 25,5% e 94,8%, no segundo e no sexto dia de avaliação, respectivamente, nas flores que foram pulverizadas somente com água. Os agentes alternativos aplicados em pré-colheita, *Trichoderma harzianum* e cloreto de cálcio, e o controle químico utilizado pelo produtor não reduziram de maneira significativa a incidência e o índice de doença do mofo cinzento quando comparados com a testemunha absoluta, ou seja, flores pulverizadas somente com água (Tabela 2), constatando-se assim a ineficiência dos agentes alternativos, bem como do fungicida, quando aplicados em campo com alta concentração de inóculo. A aplicação de cálcio não influenciou significativamente a incidência e o índice de doença e não houve interação tratamentos x cálcio.

Alguns trabalhos demonstraram que agentes de controle biológico não se mostram eficientes quando aplicados isoladamente; portanto a associação de agentes de controle biológico a outros métodos de controle tem surgido como alternativa para aumento de eficiência no controle de doenças, conforme comprovou ELAD (1995) ao aplicar *T. harzianum* e iprodione em tomates para o controle de mofo cinzento. Trabalhos com foco no

controle da esporulação em restos de cultura mostraram-se eficientes quando o agente de controle biológico *Clonostachys rosea* foi utilizado (ARAÚJO et al., 2005). ELAD e STEWART (2007) ressaltaram a importância do conhecimento da interação fungicida-agente de controle biológico para o sucesso da aplicação conjunta.

Como qualquer agente de controle biológico, a eficiência do *T. harzianum* pode ser influenciada por condições ambientais e estas não foram controladas no experimento de campo. Assim a integração do controle biológico com o químico aliado às condições climáticas para prever surtos de *Botrytis* e para favorecer o crescimento do agente de controle biológico são alternativas que devem ser exploradas em próximos trabalhos (PAULITZ & BELANGER, 2001).

Tabela 2 – Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) para incidência e índice de doença do mofo cinzento (*Botrytis cinerea*) em rosas 'Avant Garde' tratadas em pré-colheita com *Trichoderma harzianum*, cloreto de cálcio e clorotalonil, e armazenadas a 20±2 °C / 80±5% UR, durante seis dias.

Tratamento	Incidência (AACPD)	Índice de doença(AACPD)
Água	69,3 a	46,7 a
Clorotalonil	61,4 a	38,6 a
T. harzianum	75,1 a	47,0 a
T. harzianum + clorotalonil	63,9 a	41,9 a
Com cálcio	68,9 a	44,1 a
Sem cálcio	66,0 a	42,9 a
Tratamentos x Cálcio	ns	ns
CV (%)	18,3	28,4

Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem significativamente entre si (Tukey≤0,05). ns: não significativo (Tukey ≤ 0,05).

De maneira geral, os diferentes tratamentos não influenciaram a variação de massa das hastes, quando comparados às hastes testemunha (somente tratadas em água) (Tabela 3). A aplicação de cálcio em pré-colheita não influenciou a variação de massa fresca das hastes e não houve interação tratamentos x cálcio.

Tabela 3 – Variação da massa fresca das hastes tratadas em pré-colheita com *Trichoderma harzianum*, cloreto de cálcio e clorotalonil, e armazenadas a 20±2 °C / 80±5% UR, durante seis dias.

Tratamento	Massa fresca (%)		
	Dia 2	Dia 4	Dia 6
T. harzianum	(+) 8,1 b	(+) 8,1 b	(+) 3,6 b
Clorotalonil	(+) 10,5 a	(+) 11,8 a	(+) 8,5 a
Água	(+) 9,5 ab	(+) 10,6 ab	(+) 6,8 ab
T. harzianum + clorotalonil	(+) 9,8 ab	(+) 11,4 ab	(+) 7,2 ab
Com cálcio	(+) 9,1 a	(+) 9,6 a	(+) 5,9 a
Sem cálcio	(+) 9,8 a	(+) 11,3 a	(+) 7,2 a
Tratamentos x Cálcio	ns	ns	ns
CV(%)	25,3	37,2	61,1

Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem significativamente entre si (Tukey ≤ 0,05). ns: não significativo. (+) aumento de massa fresca e (-) perda de massa fresca.

4.2 Avaliação De Agentes Alternativos, Aplicados Em Pós-Colheita, No Controle Do Mofo Cinzento. (Ensaio II).

4.2.1 Ácido Giberélico (GA_3)

O GA_3, aplicado por pulverização, reduziu significativamente a incidência do mofo cinzento em rosas não inoculadas (Figura 2A), de maneira dependente da dose. A inibição observada em relação ao tratamento controle foi de 41, 40 e 54% para as concentrações de 25, 50 e 75 mg L^{-1}, respectivamente. Por outro lado, o ácido giberélico não foi eficiente em reduzir o índice de doença (Figura 2B), ainda que em relação ao tratamento controle houve inibição do desenvolvimento dos sintomas de *B. cinerea* em 24, 19 e 29% para as concentrações de 25, 50 e 75 mg L^{-1}, respectivamente. Em rosas artificialmente inoculadas, o GA_3 não reduziu a incidência e o índice de doença do mofo cinzento (Figuras 2C e 2D, respectivamente).

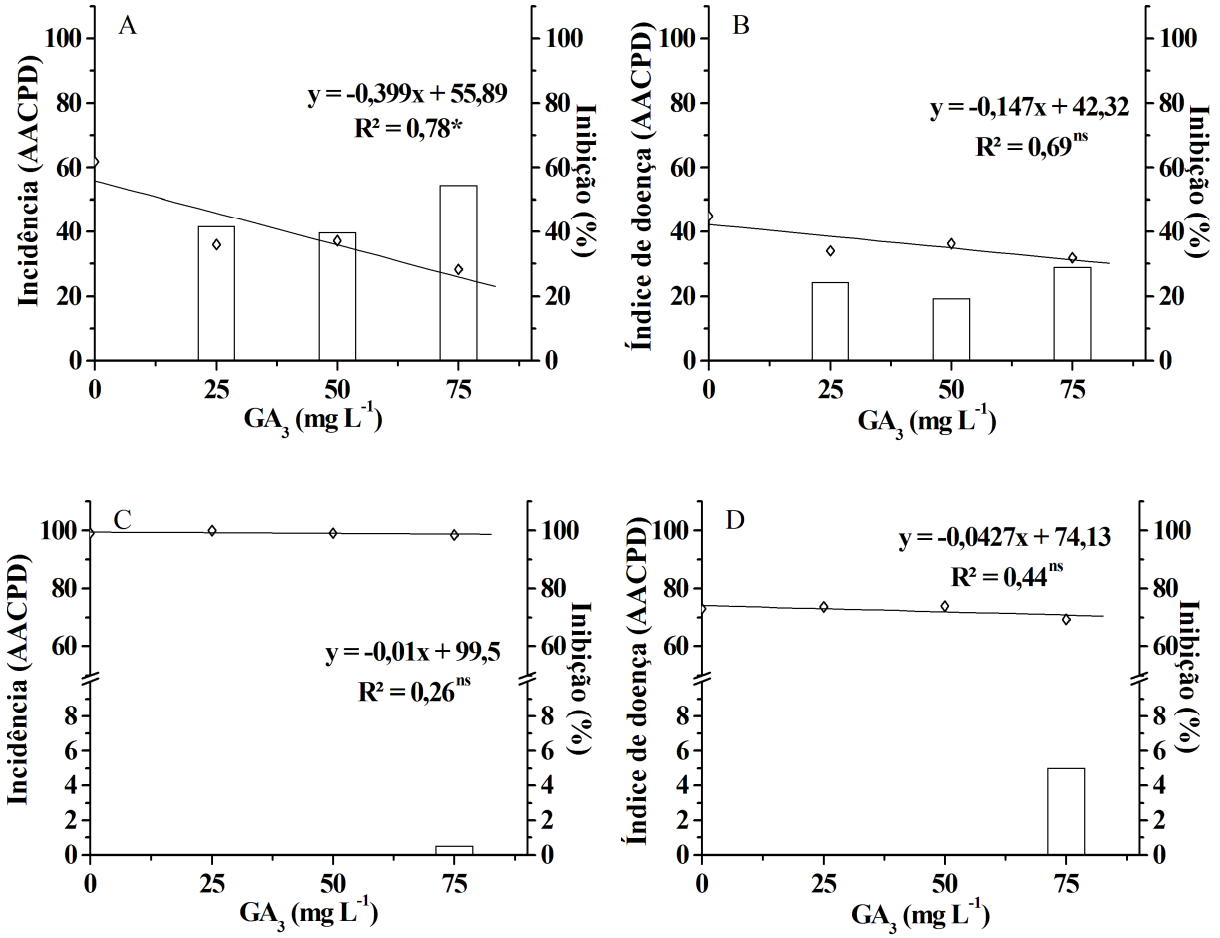


Figura 2 – Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) para incidência e índice de doença do mofo cinzento (*Botrytis cinerea*) em rosas 'Avant Garde', não inoculadas (A e B) e inoculadas (C e D), tratadas em pós-colheita por aspersão de solução contendo ácido giberélico (GA_3) e armazenadas a 20±2 °C / 80±5% UR por até oito dias. *: significativo a 5% de probabilidade. ^{ns}: não significativo.

Quando aplicado através de solução de *pulsing*, o GA_3 não reduziu a incidência e o índice de doença em rosas não inoculadas (Figuras 3A e 3B), bem como em rosas inoculadas artificialmente (Figura 3C), as quais apresentaram 100% de incidência do mofo cinzento após dois dias da inoculação.

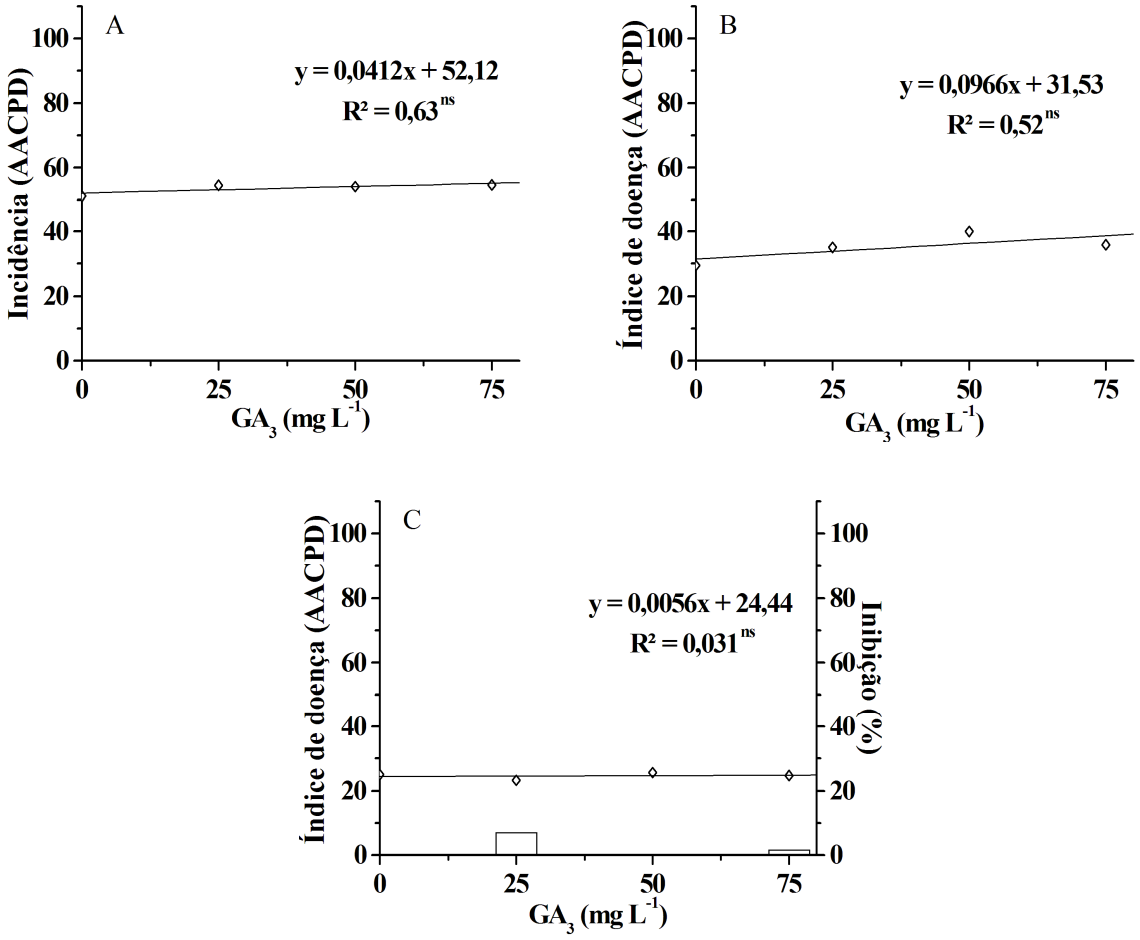


Figura 3 – Área abaixo da curva de progresso da doença para incidência e índice de doença do mofo cinzento (*Botrytis cinerea*) em rosas 'Avant Garde' não inoculadas (A e B) e índice de doença em rosas inoculadas (C), tratadas em pós-colheita com solução de *pulsing* contendo ácido giberélico (GA_3) e armazenadas a 20±2 °C / 80±5% UR por até oito dias. ^{ns}: não significativo.

SABEHAT & ZIESLIN (1994) observaram inibição por 24 horas do extravazamento de íons em pétalas destacadas de rosas 'Sonata', 'Mercedes' e 'Golden Times' tratadas com 20 mg L^{-1} de GA_3 e supressão semelhante foi obtida através da aspersão de 350 mg L^{-1} de GA_3 quando utilizaram botões de rosas das mesmas variedades. Segundo SHAUL et al. (1995), o GA_3, quando aplicado por aspersão, retarda a colonização das pétalas pelo *B. cinerea* por atuar sobre a fisiologia da flor, retardando os processos de senescência. Os autores trabalharam com 346 mg L^{-1} de GA_3, mas comentam que concentrações a partir de 20 mg L^{-1} já mostram efeitos positivos no controle do mofo cinzento em rosas. Entretanto, a aplicação de GA_3, em hastes artificialmente inoculadas ou não, através da solução de *pulsing* não reduziu a incidência e a severidade do mofo cinzento nas concentrações utilizadas (Figura

3). Quando aplicado por aspersão, o GA_3 atinge o tecido alvo e pode agir diretamente sobre os processos fisiológicos, enquanto que ao ser aplicado em solução de *pulsing*, o regulador vegetal somente atuará nos tecidos após absorção via xilema, podendo, neste caso, a absorção da solução ou a concentração de GA_3 utilizada não ter sido suficiente para desempenhar o mesmo efeito que a aplicação por aspersão.

A associação de GA_3 (50 mg L^{-1}) e sacarose (50 g L^{-1}), aplicados através de solução de *pulsing*, manteve a massa fresca e a integridade da membrana celular, e melhorou a resposta anti-oxidativa, levando ao atraso na morte celular de pétalas e hastes de gladíolo em relação aos tratamentos aplicados separadamente. Na associação de GA_3 e sacarose foi observado aumento na atividade das enzimas superóxido-dismutase (SOD) e glutationa-redutase (GR) e redução na atividade da lipoxigenase (LOX) e do índice de peroxidação de lipídios (SINGH et al., 2008). A aplicação de GA_3, tanto por aspersão quanto por *pulsing*, não influenciou a variação de massa fresca nas hastes artificialmente inoculadas, bem como nas não inoculadas (Tabelas 4 e 5).

Tabela 4 – Variação da massa fresca em rosas 'Avant Garde', inoculadas com *Botrytis cinerea* ou não inoculadas, tratadas com ácido giberélico (GA_3), por aspersão, e armazenadas a 20±2 °C / 80±5% UR por até oito dias.

Rosas não inoculadas (infecções provenientes do campo)				
GA_3 mg L^{-1}	Massa fresca (%)			
	Dia 2	Dia 4	Dia 6	Dia 8
0	(+) 5,1 a	(+) 4,5 a	(+) 0,9 b	(-) 2,0 a
25	(+) 8,9 a	(+) 6,5 a	(+) 2,5 ab	(-) 0,4 a
50	(+) 6,9 a	(+) 5,9 a	(+) 3,3 a	(+) 0,3a
75	(+) 6,4 a	(+) 5,3 a	(+) 3,1 ab	(+) 0,3 a
CV(%)	29,4	30,5	12,9	23,7
Rosas inoculadas artificialemente				
GA_3 mg L^{-1}	Massa fresca (%)			
	Dia 2	Dia 4	Dia 6	
0	(+) 1,9 a	(+) 2,0 a	(-) 3,5 a	
25	(+) 2,1 a	(+) 2,2 a	(+) 0,5 a	
50	(+) 2,2 a	(+) 1,9 a	(-) 3,1 a	
75	(+) 2,3 a	(+) 0,7 a	(-) 4,7 a	
CV(%)	12,5	19,5	49,1	

Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade (n = 5). (+) aumento de massa fresca e (-) perda de massa fresca.

Tabela 5 – Variação da massa fresca em rosas 'Avant Garde', inoculadas com *Botrytis cinerea* ou não inoculadas, tratadas com ácido giberélico (GA_3), por *pulsing*, e armazenadas a 20±2 °C / 80±5% UR por seis dias.

Rosas não inoculadas[a] (infecções provenientes do campo)			
GA_3 mg L^{-1}	Massa fresca (%)		
	Dia 2	Dia 4	Dia 6
0	(+) 6,1 a	(+) 4,7 a	(+) 2,0 a
25	(+) 5,5 a	(+) 2,4 a	(-) 1,4 a
50	(+) 5,6 a	(+) 3,4 a	0,0 a
75	(+) 5,0 a	(+) 2,1 a	(-)1,0 a
CV(%)	25,7	23,7	27,4
Rosas inoculadas artificialemente[b]			
GA_3 mg L^{-1}	Massa fresca (%)		
	Dia 2	Dia 4	Dia 6
0	(+) 2,6 a	(+) 3,7 a	(-) 0,4 a
25	(+) 2,3 a	(+) 3,7 a	(-) 1,0 a
50	(+) 2,7 a	(+) 3,7 a	(-) 2,4 a
75	(+) 2,7 a	(+) 4,2 a	(-) 1,9 a
CV(%)	27,6	31,8	25,3

Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade ([a]n = 5 e [b]n = 4). (+) aumento de massa fresca e (-) perda de massa fresca.

4.2.2 Ozônio

A exposição contínua ao ozônio não reduziu significativamente a incidência e o índice de doença do mofo cinzento em rosas não inoculadas (Figura 4A) e inoculadas artificialmente (Figura 4B) com *B. cinerea*, ainda assim, para rosas não inoculadas, constatou-se redução de 13% da incidência e 12% do índice de doença, quando comparadas às hastes não expostas ao ozônio. Para rosas inoculadas artificialmente e expostas ao O_3 houve redução de 27% na incidência e de 47% no índice de doença.

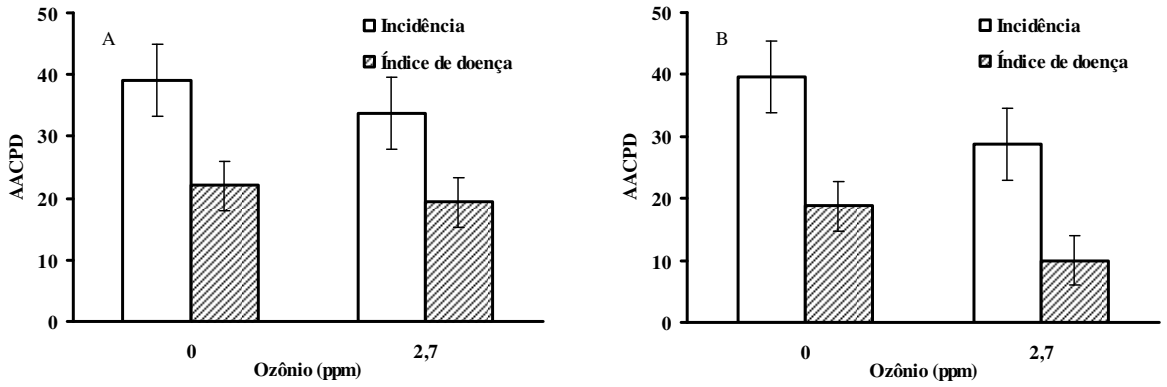


Figura 4 – Área abaixo da curva de progresso da doença para incidência e índice de doença do mofo cinzento (*Botrytis cinerea*) em rosas 'Avant Garde', não inoculadas (A) ou inoculadas artificialmente (B), expostas continuamente ou não ao ozônio e armazenadas a 20±2 °C / 80±5% UR por até oito dias.

No experimento realizado com rosas não inoculadas artificialmente foi observado que as lesões do mofo cinzento em botões mantidos sob exposição contínua ao ozônio (2,7 ppm) esporulavam em menor abundância quando comparadas aos botões de rosa do tratamento controle. Através da quantificação de conídios dispersos em água esta observação foi confirmada, sendo o número de conídios presentes na solução obtida da agitação de botões advindos do tratamento controle, 14 vezes maior que a quantidade encontrada nas soluções obtidas a partir de botões que estavam sob exposição contínua ao ozônio (Figura 5).

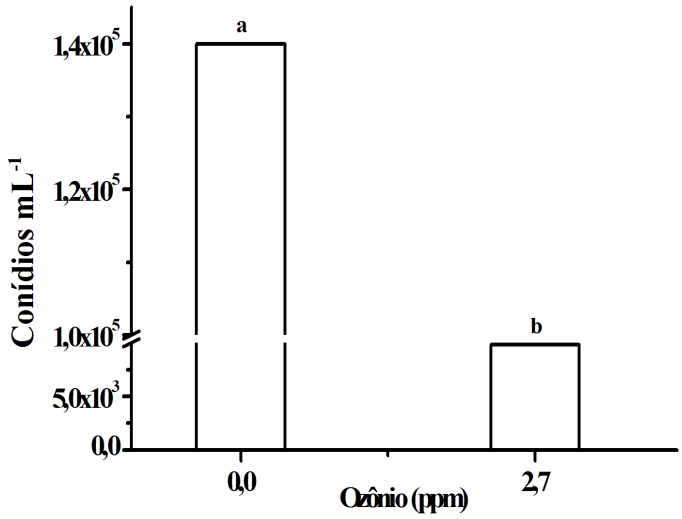


Figura 5 – Número de conídios de *Botrytis cinerea* em rosas 'Avant Garde', não inoculadas artificialmente, expostas ou não ao ozônio (2,7 ppm), e armazenados a 20±2 °C / 80±5% UR por oito dias.

De acordo com NADAS et al. (2003) a presença de ozônio inibiu a esporulação de *B. cinerea* inoculado em morangos e esta redução foi importante para evitar novos ciclos da doença durante o armazenamento. KRAUSE & WEIDENSAUL (1978) também observaram redução da esporulação de *B. cinerea in vitro* e em folhas de pelargônio expostas a 0,3 ppm de O_3. A degradação do etileno presente no ambiente também é uma reação conhecida quando há presença de ozônio na câmara, atrasando o início dos processos de senescência causados por este hormônio vegetal, além de ser uma molécula altamente reativa e de ação fungistática (SUSLOW, 1998). Sob tal aspecto, constatou-se, neste estudo, que o ozônio reduziu de maneira significativa a esporulação do fungo nas lesões.

O efeito fungistático é percebido somente sob exposição contínua ao ozônio. Uma vez que seja interrompida a geração ou fornecimento de gás na câmara o fungo retomará seu crescimento. Desta forma, a presença de ozônio em câmaras de armazenamento de rosas é uma forma de reduzir a esporulação e a carga de esporos no ar, nas paredes e piso da câmara, e assim diminuir a concentração de inóculo disponível para reinfecção dos produtos armazenados e evitar o desenvolvimento de novos ciclos da doença (PALOU et al., 2002).

Não houve influência significativa na variação de massa fresca em hastes artificialmente inoculadas e expostas ou não ao ozônio (Tabela 6). Por outro lado, constatou-se diferença significativa na variação de massa fresca no 6° dia de avaliação para hastes não inoculadas e expostas ao ozônio; entretanto esta variação não alterou visualmente o aspecto da flor e da folhagem, desde que não foi observada perda de massa fresca durante o armazenamento das hastes.

Tabela 6 – Variação da massa fresca em rosas 'Avant Garde', inoculadas com *Botrytis cinerea* ou não inoculadas, expostas continuamente ao ozônio (O_3), e armazenadas a 20±2°C / 80±-5% UR por até oito dias. Continua...

Rosas não inoculadas (infecções provenientes do campo)				
Ozônio (ppm)	Massa fresca (%)			
	Dia 2	Dia 4	Dia 6	Dia 8
0	(+) 4,4 a	(+) 3,0 a	(+) 1,1 a	(+) 5,7 a
2,7	(+) 4,6 a	(+) 2,2 a	(+) 0,2 b	(+) 5,6 a
CV(%)	11,6	20,1	23,8	27,3

Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade (n = 10). (+) aumento de massa fresca e (-) perda de massa fresca.

Tabela 6 – Continuação.

Rosas inoculadas artificialemente		
Ozônio (ppm)	Massa fresca (%)	
	Dia 2	Dia 6
0	(+) 5,9 a	(+) 4,1 a
2,7	(+) 5,9 a	(+) 4,9 a
CV(%)	10,9	28,9

Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade (n = 10). (+) aumento de massa fresca e (-) perda de massa fresca.

4.2.3 Sacarose

A adição de 40 g L^{-1} de sacarose à solução de *pulsing* reduziu significativamente a incidência e o índice de doença em flores não inoculadas, constatando-se inibição de 39 e 42% na incidência e no índice de doença, respectivamente (Figura 6A). A associação de sacarose e ácido cítrico manteve a qualidade de rosas cv. Vegas por mais tempo (PEREIRA & DIAS-TAGLIACOZZO, 2007). A função da sacarose aplicada por solução de *pulsing* não deve ser resumida apenas ao efeito osmótico promovido por sua absorção, WHITEHEAD et al. (2003) observaram menor sensibilidade ao etileno em flores climatéricas (cravo, petúnia, frésia) submetidas ao tratamento com 20% de sacarose por 24 h a 22 °C. A aplicação prévia de tiossulfato de prata (STS) a 0,2 mg L^{-1} por 2 h, seguida da aplicação de 120 g L^{-1} de sacarose, foi menos eficiente na redução da produção de etileno quando comparada a isolada de sacarose, porém a longevidade pós-colheita foi de 10 dias para o tratamento combinado e de 8 dias para somente sacarose (LIAO et al., 2000).

Em concentrações mais baixas de sacarose na solução de *pulsing* (0 a 8 g L^{-1}), em rosas artificialmente inoculadas, não houve redução da incidência ou do índice de doença do mofo cinzento (Figura 6B).

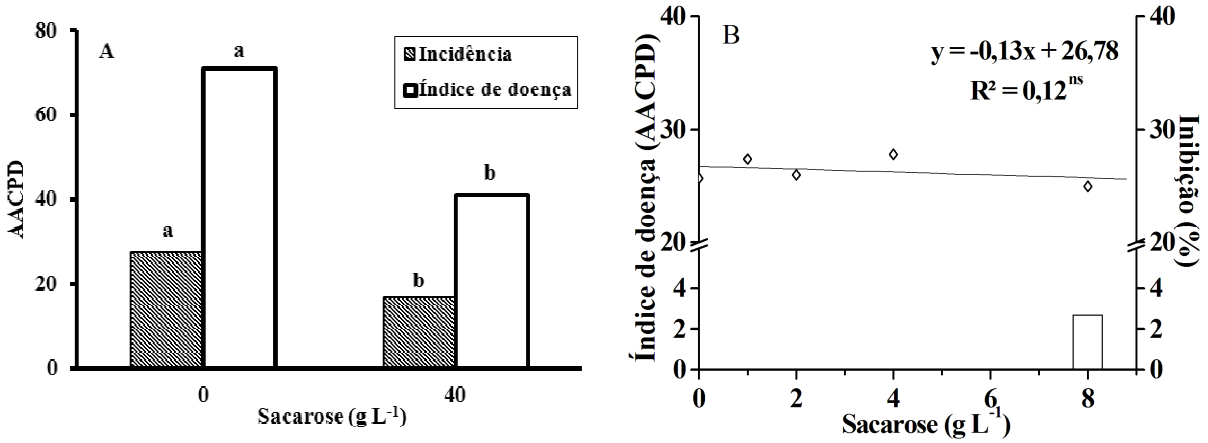


Figura 6 – Área abaixo da curva de progresso da doença para incidência e índice de doença do mofo cinzento (*Botrytis cinerea*) em rosas 'Avant Garde' não inoculadas (A) e índice de doença em rosas inoculadas artificialmente (B), tratadas em pós-colheita com solução de *pulsing* contendo sacarose e ácido cítrico (0,15 g L^{-1}) e armazenadas a 20±2 °C / 80±5% UR por até seis dias. ^{ns}: não significativo.

A aplicação de sacarose e ácido cítrico não aumentou significativamente a absorção de água nas rosas artificialmente inoculadas (Tabela 7). Entretanto, quando se avaliaram hastes com infecções naturais, provenientes do campo (Tabela 7), as rosas tratadas com sacarose absorveram significativamente mais água no 2° e 4° dias em comparação ao tratamento controle (somente ácido cítrico).

Tabela 7 – Variação da massa fresca em rosas 'Avant Garde', inoculadas com *Botrytis cinerea* ou não inoculadas, tratadas sacarose e ácido cítrico (0,15 g L^{-1}), por *pulsing*, e armazenadas a 20±2 °C / 80±5% UR por seis dias. Continuação...

Rosas não inoculadas[a] (infecções provenientes do campo)			
Sacarose g L^{-1}	Massa fresca (%)		
	Dia 2	Dia 4	Dia 6
0	(+) 4,1 b	(+) 2,7 b	(+) 1,5 a
40	(+) 6,0 a	(+) 4,7 a	(+) 2,0 a
CV9%)	15,5	34,0	15,0

Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade ([a]n = 5 e [b]n = 4). (+) aumento de massa fresca e (-) perda de massa fresca.

Tabela 7 – Continua.

Sacarose g L^{-1}	Rosas inoculadas artificialemente[b]		
	Massa fresca (%)		
	Dia 2	Dia 4	Dia 6
0	(+) 6,0 a	(+) 8,1 a	(+) 3,5 a
1	(+) 5,9 a	(+) 8,3 a	(+) 3,7 a
2	(+) 5,6 a	(+) 10,9 a	(+) 5,3 a
4	(+) 5,7 a	(+) 4,5 a	(+) 0,4 a
8	(+) 5,0 a	(+) 7,3 a	(+) 3,1 a
CV(%)	16,1	27,6	23,2

Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade ([a]n = 5 e [b]n = 4). (+) aumento de massa fresca e (-) perda de massa fresca.

4.2.4 Cálcio

O íon cálcio (Ca^{2+}), aplicado na solução de *pulsing*, tanto na forma de sulfato quanto na forma cloreto, não reduziu significativamente a incidência (Figura 7A) e o índice de doença em rosas não inoculadas (Figuras 7B e 7D) ou inoculadas artificialmente (Figura 7C). CAPDEVILLE et al. (2005) relataram que rosas 'Kiss' obtiveram redução de 50% na área abaixo da curva de progresso da doença em flores não inoculadas com *B. cinerea* e tratadas com 50 mM de sulfato de cálcio em solução de *pulsing*. No entanto, constatou-se que rosas 'Avant Garde' não responderam da mesma forma que a 'Kiss' quando submetidas ao *pulsing* com sulfato de cálcio, e a troca do sal de cálcio por cloreto de cálcio, visando melhorar a solubilização, também não apresentou redução da incidência ou severidade do mofo cinzento nas flores.

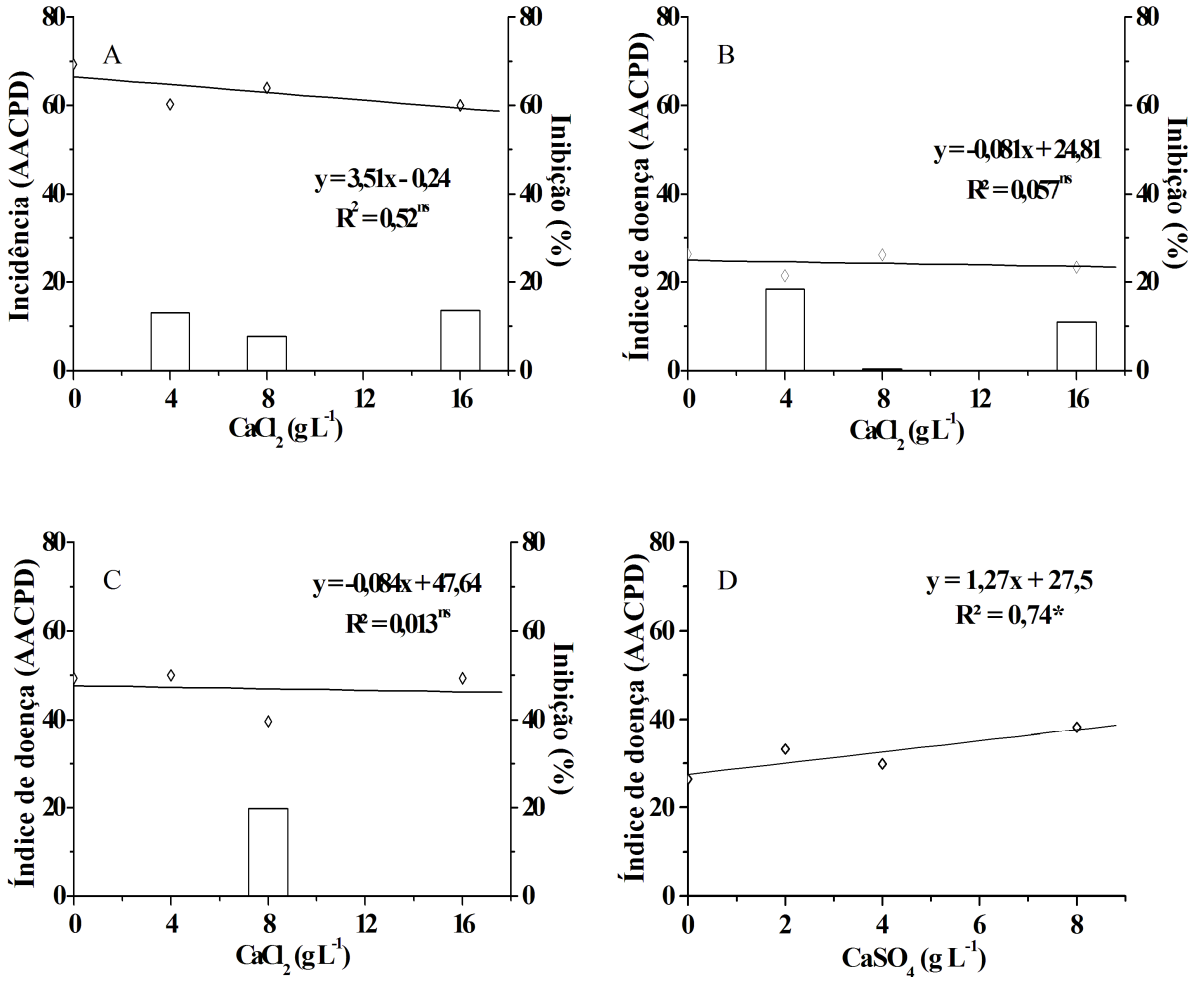


Figura 7 – Área abaixo da curva de progresso da doença para incidência e índice de doença do mofo cinzento (*Botrytis cinerea*) em rosas 'Avant Garde' não inoculadas, tratadas em pós-colheita com cloreto de cálcio, por *pulsing* (A e B) ou sulfato de cálcio (D), armazenadas a 20±2 °C / 80±5% UR durante seis dias, e para índice de doença em rosas inoculadas artificialmente e tratadas em pós-colheita com cloreto de cálcio, por *pulsing* (C).

O íon cálcio (Ca^{2+}), aplicado na solução de *pulsing*, tanto na forma de sulfato quanto na forma cloreto, não aumentou significativamente a absorção de água em rosas não inoculadas artificialmente ou inoculadas (Tabela 8). A pequena variação da massa fresca observada indica baixa absorção de água e YUNIS et al. (1990) mostraram que o teor de cálcio nos tecidos varia em função da transpiração e não do teor de cálcio no solo, portanto, provavelmente não houve inibição de crescimento de *B. cinerea* devido ao teor insuficiente de cálcio nos tecidos. Ao aplicar 0,05 M de $CaCl_2$ em discos foliares de abóbora, CHEOUR et al. (1992) observaram evidência de atraso na senescência e na degradação dos lipídios através da redução da degradação enzimática das membranas. O íon cálcio, quando presente em meio de

cultura, inibe o crescimento micelial e a germinação de conídios de *B. cinerea* (CHARDONET et al., 2000), portanto alterar a forma de aplicação de *pulsing* para aspersão poderia favorecer a exposição do fungo ao cálcio, reduzindo seu crescimento.

Tabela 8 – Variação da massa fresca em rosas 'Avant Garde', inoculadas com Botrytis cinerea ou não inoculadas, tratadas com sulfato ou cloreto de cálcio, por *pulsing*, e armazenadas a 20±2 °C / 80±5% UR por até oito dias.

Sulfato de cálcio[a] (hastes não inoculadas)				
$CaSO_4$ g L^{-1}	Massa fresca (%)			
	Dia 2	Dia 4	Dia 6	
0	(+) 2,6 a	(+) 3,3 a	(-) 1,0 a	
2	(+) 2,0 a	(+) 2,4 a	(-) 2,0 a	
4	(+) 1,9 a	(+) 2,4a	(-) 2,5 a	
8	(+) 2,4 a	(+) 2,6 a	(-) 2,5 a	
CV(%)	37,66	40,85	58,78	
Cloreto de cálcio[b] (hastes não inoculadas)				
$CaCl_2$ g L^{-1}	Massa fresca (%)			
	Dia 2	Dia 4	Dia 6	
0	(+) 3,6 a	(+) 2,4 a	(+) 0,9 a	
4	(+) 3,4 a	(+) 1,4 a	(-) 0,4 a	
8	(+) 4,7 a	(+) 2,5 a	(+) 0,6 a	
16	(+) 4,8 a	(+) 2,6 a	(+) 0,7 a	
CV(%)	33,90	65,00	31,03	
Cloreto de cálcio[a] (hastes inoculadas)				
$CaCl_2$ g L^{-1}	Massa fresca (%)			
	Dia 2	Dia 4	Dia 6	Dia 8
0	(+) 7,8 a	(+) 9,82 a	(+) 9,0 a	(+) 3,6 a
4	(+) 8,5 a	(+) 9,87 a	(+) 8,3 a	(+) 2,6 a
8	(+) 8,5 a	(+) 11,30 a	(+) 11,0 a	(+) 6,4 a
16	(+) 7,6 a	(+) 10,45 a	(+) 10,0 a	(+) 4,5 a
CV(%)	11,28	16,31	20,62	36,23

Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade ([a]n = 4 e [b]n = 5). (+) aumento de massa fresca e (-) perda de massa fresca.

4.2.5 1-Metilciclopropeno (1-MCP)

A aplicação de 1-MCP em rosas 'Avant Garde' não foi eficiente em reduzir a incidência e o índice de doença do mofo cinzento em hastes não inoculadas (Figuras 8A e 8B), bem como em hastes inoculadas artificialmente (Figuras 8E e 8F) e armazenadas sob condições ambiente. Resultado semelhantes foram observados quando as rosas, não inoculadas, foram mantidas por 3 dias sob refrigeração após serem expostas ao 1-MCP (Figuras 8C e 8D) ou quando estas foram artificialmente inoculadas antes de serem tratadas

(Figuras 8E e 8F).

O uso do 1-MCP, em geral, não atrasou o desenvolvimento do mofo cinzento em rosas 'Avant Garde', contrariando os resultados obtidos por SEGLIE et al. (2009), que verificaram a inibição do desenvolvimento de *B. cinerea,* em pétalas destacadas de rosa 'Ritz', artificialmente inoculadas e previamente tratadas com 380 nL L^{-1} de 1-MCP por 24 h. REID et al. (2001) observaram que após o tratamento com 1-MCP as pétalas de cravo recuperaram 50% da resposta ao etileno após quatro dias, sugerindo que o efeito bloqueador da ação do etileno seja reduzido com o tempo em função da formação de novos sítios receptores deste hormônio.

Em hastes não inoculadas, a refrigeração não retardou o desenvolvimento do patógeno em relação as flores não refrigeradas, já no experimento com inoculação artificial observou-se redução de aproximadamente 25% para incidência e de 50% para o índice de doença nas flores que foram refrigeradas em comparação com as não refrigeradas.

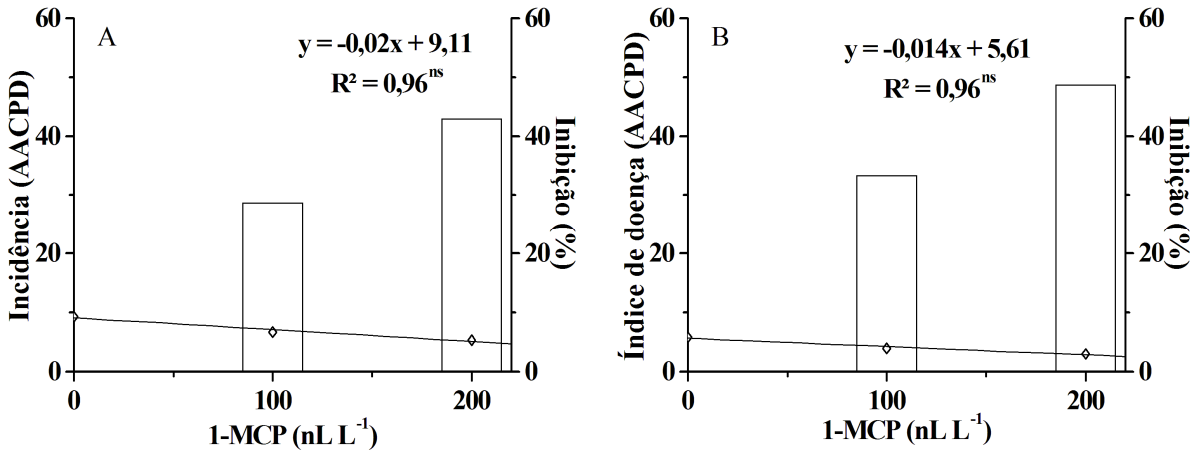


Figura 8 – Área abaixo da curva de progresso da doença para incidência e índice de doença do mofo cinzento (*Botrytis cinerea*) em rosas 'Avant Garde', não inoculadas (A e B) e inoculadas (E e F), tratadas com 1-MCP por 15 h e armazenadas a 20±2°C / 80±5% UR, por até seis dias, e para incidência e índice de doença em rosas não inoculadas (C e D) e inoculadas (G e H), tratadas com 1-MCP por 15 h e armazenadas sob refrigeração (5 °C) por três dias, seguido por transferência para 20±2°C / 80±5% UR, por até seis dias. Continuação...

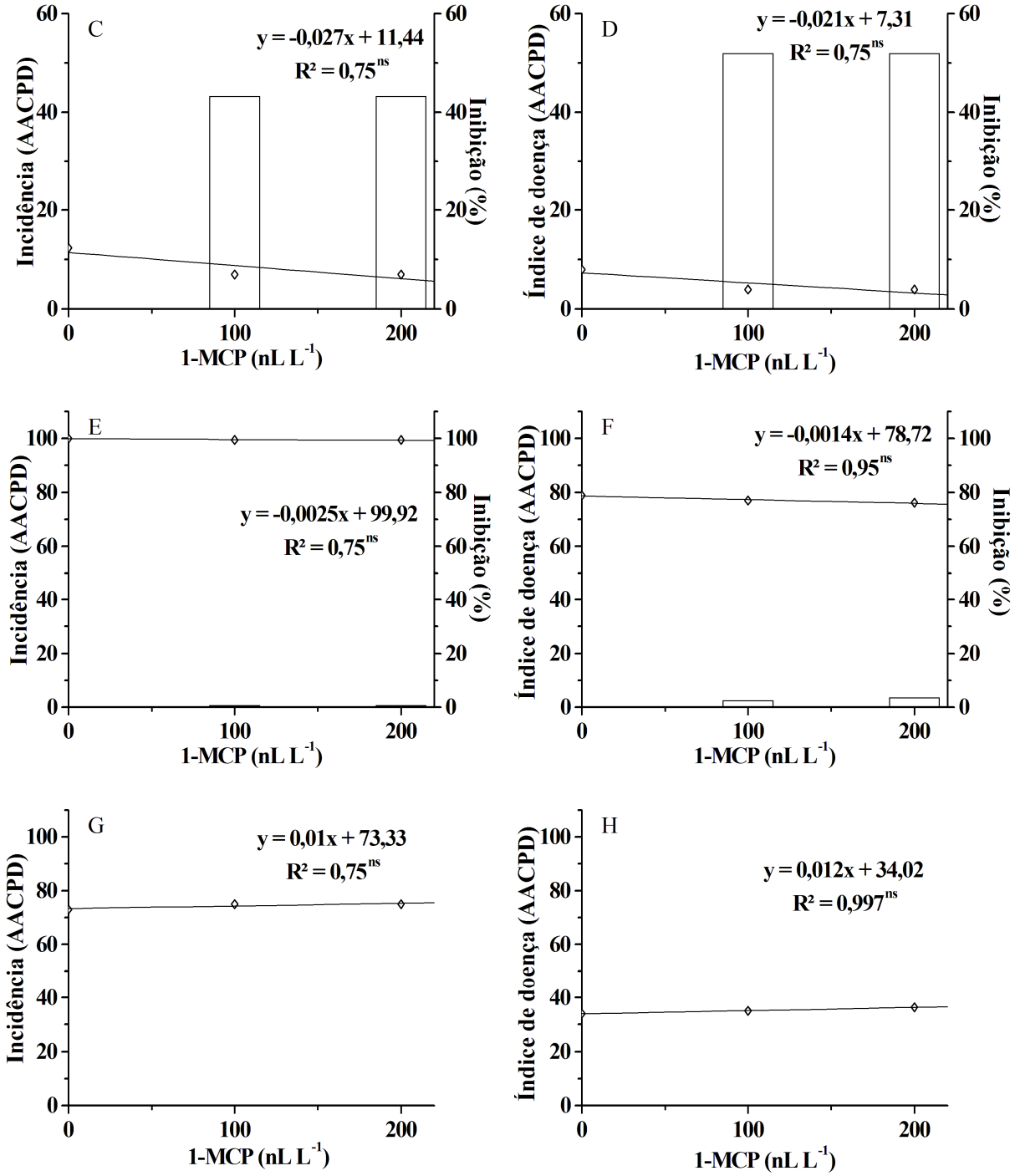


Figura 8 – Área abaixo da curva de progresso da doença para incidência e índice de doença do mofo cinzento (*Botrytis cinerea*) em rosas 'Avant Garde', não inoculadas (A e B) e inoculadas (E e F), tratadas com 1-MCP por 15 h e armazenadas a 20±2°C / 80±5% UR, por até seis dias, e para incidência e índice de doença em rosas não inoculadas (C e D) e inoculadas (G e H), tratadas com 1-MCP por 15 h e armazenadas sob refrigeração (5 °C) por três dias, seguido por transferência para 20±2°C / 80±5% UR, por até seis dias.

Não houve influência da aplicação do 1-MCP na variação de massa fresca em rosas não inoculadas, tanto para aquelas armazenadas sob condições ambiente quanto para as mantidas sob refrigeração (Tabela 9). Em rosas inoculadas com *B. cinerea* e tratadas com 1-MCP (Tabela 10), observou-se, no 6° dia de avaliação, maior perda de massa para aquelas tratadas com 100 nL L^{-1}, mas não houve murcha visual.

Tabela 9 – Variação da massa fresca em rosas 'Avant Garde', não inoculadas, tratadas com 1-MCP, e armazenadas a 20±2 °C / 80±5% UR por dois dias ou sob refrigeração (5 °C), por três dias, seguido por transferência para condições ambiente.

Ambiente			
1-MCP	Massa fresca (%)		
nL L^{-1}	Dia 2		
0	(-) 10,3 a		
100	(-) 9,8 a		
200	(-) 9,7 a		
CV(%)	9,5		
Refrigeração+ambiente			
1-MCP	Massa fresca (%)		
nL L^{-1}	Dia 2	Dia 4	Dia 6
0	(-) 6,1 a	(-) 15,7 a	(-) 30,7 a
100	(-) 5,7 a	(-) 15,8 a	(-) 34,1 a
200	(-) 5,7 a	(-) 15,8 a	(-) 34,2 a
CV(%)	16,3	34,4	45,6

Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade (n = 5). (+) aumento de massa fresca e (-) perda de massa fresca.

Tabela 10 – Variação da massa fresca em rosas 'Avant Garde', inoculadas com *Botrytis cinerea*, tratadas com 1-MCP, e armazenadas a 20±2 °C / 80±5% UR por seis dias ou sob refrigeração (5 °C), por três dias, seguido por transferência para condições ambiente. Continuação...

Ambiente			
1-MCP	Massa fresca (%)		
nL L^{-1}	Dia 2	Dia 4	Dia 6
0	(+) 1,4 a	(+) 0,2 a	(-) 6,4 a
100	(+) 1,3 a	(-) 0,1 a	(-) 7,3 a
200	(+) 1,6 a	(+) 0,7 a	(-) 5,3 a
CV(%)	27,2	19,7	34,2

Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade (n = 5). (+) aumento de massa fresca e (-) perda de massa fresca.

Tabela 10 – Continua.

1-MCP nL L^{-1}	Refrigeração + ambiente		
	Massa fresca (%)		
	Dia 2	Dia 4	Dia 6
0	(+) 0,8 a	(+) 2,4 a	(-) 2,4 a
100	(+) 0,8 a	(+) 2,1 a	(-) 3,9 b
200	(+) 0,8 a	(+) 2,0 a	(-) 2,9 a
CV(%)	34,1	16,8	18,7

Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade (n = 5). (+) aumento de massa fresca e (-) perda de massa fresca.

De maneira geral, os agentes alternativos de controle não influenciaram significativamente a variação de massa fresca nas hastes de rosa em relação às hastes controle. Foi observada a variação normal de massa fresca em flores de corte, ou seja, absorção de água nos primeiros dias (em função do corte da base da haste) e, em seguida, perda por transpiração. Estas variações não foram perceptíveis na qualidade visual da flor, sendo a murcha evidente somente após perdas acima de 10% de massa fresca.

Rosas 'Avant Garde' não apresentam problemas de abertura floral. As hastes utilizadas nos diferentes experimentos chegaram ao laboratório com notas 1 ou 2 para abertura floral e, desta forma, não foi observado retardo ou estímulo de abertura floral, uma vez que em dois ou três dias de armazenamento das hastes sob condições ambiente, os botões estavam totalmente abertos (Figura 9).

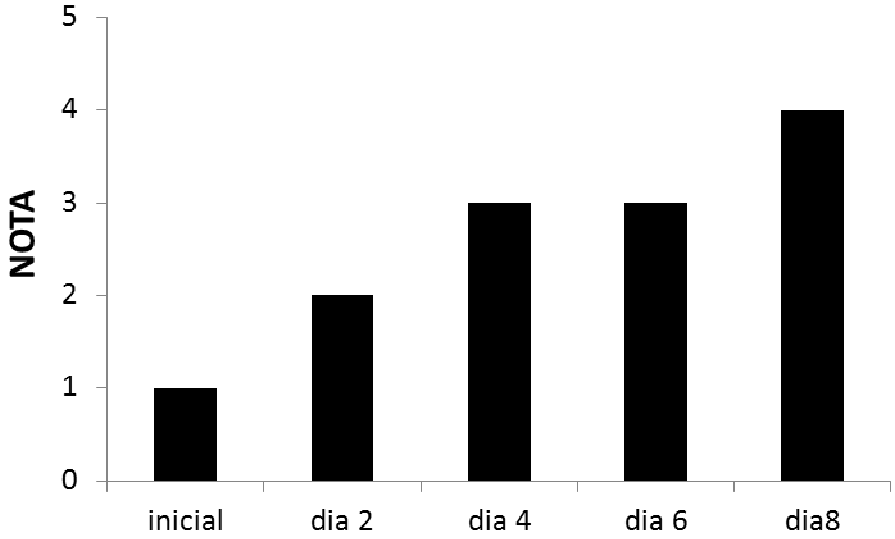


Figura 9 – Abertura floral de rosas 'Avant Garde' armazenadas sob condições ambiente (20±2 °C / 80±5% UR) por 8 dias, utilizando-se escala de notas descrita por CAPDEVILLE et al. (2003).

Quanto à coloração, o GA_3, aplicado através de solução de *pulsing*, não influenciou significativamente os parâmetros L*, a* e b* tanto para pétalas quanto para a folhagem, durante o armazenamento das hastes sob condições ambiente (Tabela 11). Observou-se que durante o armazenamento das hastes, os valores de L*, a* e b*, para folhagem, mantiveram-se praticamente constantes. Para as pétalas, somente os valores de a* apresentaram pequena redução, indicando coloração rosa menos intensa devido ao processo de senescência.

O *pulsing* de sacarose e ácido cítrico não influenciou significativamente a coloração das pétalas de hastes não inoculadas (Tabela 12). Para a cor das folhagens, constatou-se que as diferentes concentrações promoveram alterações no valor de b*, estando estes menores que o controle (somente ácido cítrico) no 8° dia de armazenamento das hastes sob condições ambiente, indicando folhas mais verdes (Tabela 12).

Para hastes tratadas com sulfato de cálcio, não houve diferenças significativas para os parâmetros L* e b* entre as hastes controle e tratadas, tanto para pétalas quanto para a folhagem, durante o armazenamento das flores sob condições ambiente (Tabela 13). O parâmetro a* apresentou diferenças significativas para folhagem e pétalas, no último dia de avaliação, sendo que hastes tratadas com sulfato de cálcio aprentavam folhagem com coloração verde menos intensa e pétalas com coloração rosa mais intensa. Por outro lado, a aplicação de $CaCl_2$ não influenciou a coloração da folhagem e das pétalas das hastes (Tabela 14).

Tabela 11 - Cor da folhagem e das pétalas de hastes de rosa artificialmente inoculadas, tratadas com solução de *pulsing* contendo ácido giberélico (GA_3) e armazenadas a 20±2 °C / 80±5% UR por oito dias. Continua...

	Folhagem			
GA_3	L			
mg L^{-1}	Inicial	Dia 2	Dia 4	Dia 8
0	36,87 a	36,55 a	36,15 ab	36,02 a
25	35,86 a	36,65 a	35,68 b	35,73 a
50	36,99 a	37,47 a	36,05 ab	36,16 a
75	36,90 a	36,67 a	37,82 a	36,44 a
CV(%)	3,13	2,87	3,37	2,41

Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade (n = 4).

Tabela 11 - Continuação...

GA_3 mg L^{-1}	a			
	Inicial	Dia 2	Dia 4	Dia 8
0	-9,74 a	-8,24 a	-8,45 a	-9,51 a
25	-8,99 a	-8,70 a	-8,42 a	-9,87 a
50	-8,90 a	-8,34 a	-8,13 a	-9,49 a
75	-8,76 a	-8,96 a	-7,45 a	-9,97 a
CV(%)	-12,71	-9,13	-10,42	-6,46
GA_3 mg L^{-1}	b			
	Inicial	Dia 2	Dia 4	Dia 8
0	10,07 a	8,03 a	8,45 a	9,95 a
25	10,75 a	10,32 a	9,12 a	10,97 a
50	11,40 a	10,07 a	8,45 a	10,84 a
75	9,87 a	9,99 a	7,73 a	10,81 a
CV(%)	20,31	13,16	22,73	12,04
	Pétalas			
GA_3 mg L^{-1}	L			
	Inicial	Dia 2	Dia 4	Dia 8
0	48,51 a	47,81 a	48,74 a	48,67 a
25	48,80 a	48,11 a	47,57 a	48,70 a
50	47,85 a	48,75 a	47,72 a	47,60 a
75	48,01 a	49,18 a	47,47 a	48,08 a
CV(%)	1,65	2,76	2,89	1,58
GA_3 mg L^{-1}	a			
	Inicial	Dia 2	Dia 4	Dia 8
0	18,06 a	17,83 a	16,68 a	14,09 a
25	17,49 a	18,04 a	15,97 a	14,22 a
50	17,84 a	17,43 a	15,77 a	14,18 a
75	18,07 a	17,49 a	15,69 a	14,84 a
CV(%)	4,54	3,20	4,92	6,29
GA_3 mg L^{-1}	b			
	Inicial	Dia 2	Dia 4	Dia 8
0	-3,92 a	-4,77 a	-5,56 a	-4,08 a
25	-3,81 a	-4,71 a	-4,99 a	-3,69 a
50	-4,39 a	-5,07 a	-5,42 a	-4,14 a
75	-4,24 a	-5,15 a	-5,22 a	-4,71 a
CV(%)	-10,57	-8,79	-8,21	-11,52

Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade (n = 4).

Tabela 12 - Cor da folhagem e das pétalas de hastes de rosa 'Avant Garde', não inoculadas, tratadas com solução de *pulsing* contendo sacarose e ácido cítrico (0,15 g L^{-1}) e armazenadas a 20±2 °C / 80±5% UR por oito dias. Continua...

Folhagem				
Sacarose	L			
g L^{-1}	Inicial	Dia 2	Dia 4	Dia 8
0	32,21 a	35,21 a	35,01 a	34,75 a
1	32,87 a	34,60 a	33,80 a	34,54 a
2	33,89 a	34,36 a	33,64 a	33,91 a
4	30,59 a	35,02 a	34,01 a	33,80 a
8	34,06 a	35,59 a	34,92 a	34,94 a
CV (%)	8,58	2,04	2,80	2,84
Sacarose	a			
g L^{-1}	Inicial	Dia 2	Dia 4	Dia 8
0	-5,84 a	-7,41 b	-7,29 a	-7,89 a
1	-5,71 a	-7,17 b	-7,22 a	-6,80 b
2	-6,45 a	-5,55 a	-7,58 a	-7,35 ab
4	-6,00 a	-7,46 b	-6,77 a	-6,70 b
8	-6,85 a	-6,95 b	-6,90 a	-7,35 ab
CV (%)	-12,80	-12,19	-8,91	-6,40
Sacarose	b			
g L^{-1}	Inicial	Dia 2	Dia 4	Dia 8
0	10,34 a	11,50 a	13,56 a	15,80 a
1	10,30 a	12,27 a	11,22 a	12,13 b
2	11,84 a	8,66 a	13,27 a	12,04 b
4	9,79 a	10,62 a	10,49 a	11,34 b
8	12,29 a	10,36 a	11,88 a	11,71 b
CV (%)	14,50	18,58	18,72	12,86
Pétalas				
Sacarose	L			
g L^{-1}	Inicial	Dia 2	Dia 4	Dia 8
0	47,90 a	50,67 a	48,39 a	49,63 a
1	48,77 a	50,59 a	49,71 a	48,75 a
2	47,22 a	49,91 a	48,25 a	49,88 a
4	48,02 a	50,82 a	49,85 a	50,89 a
8	46,77 a	50,23 a	49,31 a	48,69 a
CV (%)	4,69	2,75	3,01	3,90
Sacarose	a			
g L^{-1}	Inicial	Dia 2	Dia 4	Dia 8
0	17,39 a	17,36 a	14,31 a	13,17 a
1	17,82 a	17,57 a	15,71 a	13,39 a
2	18,37 a	16,41 a	14,97 a	12,46 a
4	18,20 a	16,55 a	15,17 a	12,75 a
8	18,70 a	17,12 a	15,62 a	13,03 a
CV (%)	5,11	5,74	6,02	8,16

Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade (n = 4).

Tabela 12 – Continua.

Sacarose	b			
g L^{-1}	Inicial	Dia 2	Dia 4	Dia 8
0	-4,27 a	-5,25 a	-5,09 a	-4,41 a
1	-4,18 a	-5,88 a	-5,64 a	-4,86 a
2	-4,49 a	-5,23 a	-5,13 a	-4,23 a
4	-4,50 a	-5,51 a	-4,83 a	-4,13 a
8	-4,56 a	-4,86 a	-5,34 a	-4,11 a
CV (%)	-18,17	-13,19	-10,58	-20,26

Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade (n = 4).

Tabela 13 - Cor da folhagem e das pétalas de hastes de rosa 'Avant Garde', não inoculadas, tratadas com solução de *pulsing* contendo sulfato de cálcio e armazenadas a 20±2 °C / 80±5% UR por oito dias. Continua...

	Folhagem			
$CaSO_4$	L			
g L^{-1}	Inicial	Dia 2	Dia 4	Dia 8
0	36,81 a	36,41 a	36,57 a	34,82 a
2	37,59 a	36,62 a	37,06 a	36,39 a
4	38,22 a	36,65 a	37,36 a	37,27 a
8	37,32 a	37,25 a	34,89 a	35,01 a
CV (%)	3,02	3,4	4,27	3,93
$CaSO_4$	a			
g L^{-1}	Inicial	Dia 2	Dia 4	Dia 8
0	-8,90 a	-7,58 a	-8,26 a	-9,57 a
2	-8,27 a	-7,90 a	-7,05 a	-6,90 a
4	-8,12 a	-8,54 a	-8,01 a	-7,74 a
8	-8,49 a	-7,91 a	-8,81 a	-8,63 a
CV (%)	-9,32	-11,32	-10,20	-11,77
$CaSO_4$	b			
g L^{-1}	Inicial	Dia 2	Dia 4	Dia 8
0	10,05 a	8,03 a	8,45 a	9,95 a
2	9,13 a	9,11 a	7,15 a	7,31 a
4	9,21 a	9,84 a	8,55 a	7,98 a
8	9,26 a	8,75 a	9,52 a	9,43 a
CV (%)	11,49	14,46	21,69	19,13

Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade (n = 4).

Tabela 13 – Continuação...

	Pétalas			
$CaSO_4$	L			
g L^{-1}	Inicial	Dia 2	Dia 4	Dia 8
0	49,01 a	48,03 a	48,78 a	49,40 a
2	48,31 a	48,21 a	46,39 a	47,41 a
4	48,53 a	48,78 a	47,73 a	47,14 a
8	48,82 a	49,00 a	46,58 a	48,21 a
CV (%)	2,81	4,13	4,94	4,39
CaSO4	a			
g L^{-1}	Inicial	Dia 2	Dia 4	Dia 8
0	17,71 a	17,83 a	16,68 a	14,09 c
2	18,07 a	17,61 a	16,41 a	16,42 a
4	17,79 a	17,02 a	15,46 b	15,46 b
8	18,16 a	17,82 a	15,76 ab	15,76 ab
CV (%)	3,65	3,19	3,63	2,81
$CaSO_4$	b			
g L^{-1}	Inicial	Dia 2	Dia 4	Dia 8
0	-4,11 a	-4,99 a	-5,78 a	-3,75 a
2	-3,88 a	-4,83 a	-5,52 a	-5,39 a
4	-3,37 a	-5,01 a	-4,95 a	-4,82 a
8	-4,09 a	-5,17 a	-5,62 a	-5,57 a
CV (%)	-18,11	-6,63	-12,61	-18,41

Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade (n = 4).

Tabela 14 - Cor da folhagem e das pétalas de hastes de rosa 'Avant Garde', não inoculadas, tratadas com solução de *pulsing* contendo cloreto de cálcio e armazenadas a 20±2 °C / 80±5% UR por oito dias. Continua...

	Folhagem			
$CaCl_2$	L			
g L^{-1}	Inicial	Dia 2	Dia 4	Dia 8
0	33,05 a	32,84 a	31,68 a	33,08 a
4	32,35 a	32,07 a	31,13 a	32,67 a
8	32,00 a	33,07 a	33,68 a	33,66 a
16	32,15 a	32,74 a	32,83 a	32,62 a
CV (%)	3,98	4,66	4,27	2,93

Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade (n = 5).

Tabela 14 – Continuação...

$CaCl_2$ g L^{-1}	a			
	Inicial	Dia 2	Dia 4	Dia 8
0	-6,81 a	-9,87 a	-6,63 a	-6,04 a
4	-6,73 a	-5,82 a	-6,31 a	-6,00 a
8	-6,94 a	-6,30 a	-6,33 a	-6,11 a
16	-6,86 a	-6,63 a	-6,56 a	-6,07 a
CV (%)	-17,63	-50,72	-16,56	-11,84
$CaCl_2$ g L^{-1}	b			
	Inicial	Dia 2	Dia 4	Dia 8
0	5,48 a	11,35 a	9,25 a	9,66 a
4	4,57 a	10,28 a	9,69 a	8,81 a
8	5,00 a	9,19 a	11,43 a	9,30 a
16	4,62 a	10,59 a	9,74 a	8,80 a
CV (%)	38,87	19,39	18,48	13,21
Pétalas				
$CaCl_2$ g L^{-1}	L			
	Inicial	Dia 2	Dia 4	Dia 8
0	62,85 a	47,95 a	44,40 a	46,33 a
4	58,73 a	44,03 a	43,55 a	45,46 a
8	62,13 a	45,42 a	44,46 a	44,31 a
16	65,43 a	46,91 a	44,23 a	43,88 a
CV (%)	8,00	5,92	3,53	2,78
$CaCl_2$ g L^{-1}	a			
	Inicial	Dia 2	Dia 4	Dia 8
0	12,51 a	14,92 a	15,96 a	15,81 a
4	13,39 a	15,65 a	15,98 a	15,80 a
8	13,30 a	15,67 a	16,70 a	16,44 a
16	11,48 a	13,76 a	15,17 a	16,18 a
CV (%)	11,25	12,10	5,77	3,65
$CaCl_2$ g L^{-1}	b			
	Inicial	Dia 2	Dia 4	Dia 8
0	1,57 a	-3,61 a	-5,33 a	-5,54 a
4	0,86 a	-4,93 a	-5,64 a	-5,98 a
8	0,58 a	-4,81 a	-6,40 a	-6,15 a
16	2,27 a	-3,57 a	-5,38 a	-5,86 a
CV (%)	133,53	-30,92	-9,64	-6,27

Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade (n = 5).

A análise da cor da folhagem e das pétalas (Tabelas 27, 28, 29 e 30), através de colorímetro, não se mostrou uma ferramenta que possa ser adotada como parâmetro de avaliação da qualidade para rosas 'Avant Garde', uma vez que não se constataram diferenças significativas nos parâmetros L* e b* entre os tratamentos aplicados e as hastes controle, para pétalas e folhagem, durante o armazenamento. Apesar de ocorrerem diferenças entre os

tratamentos quanto ao parâmetro a* (sulfato de cálcio: folhagem e pétalas e sacarose+ác. cítrico: folhagem), não foram constatadas diferenças na análise visual da qualidade. A senescência não implica em mudanças na coloração das pétalas e folhagens nessa cultivar, sendo a avaliação objetiva da coloração não adequada para avaliar a senescência ou o efeito destes tratamentos em rosas 'Avant Garde'.

Em suma, o GA_3, aplicado por aspersão, a sacarose, aplicada através de solução de *pulsing* a 40 g L^{-1} e a exposição contínua ao ozônio (2,7 ppm) contribuem para a redução do mofo cinzento em pós-colheita de rosas 'Avant Garde', podendo ser empregados no manejo integrado da doença. Constatou-se que a aspersão de GA_3 (25 a 75 mg L^{-1}) reduz a incidência do mofo cinzento em rosas com infecções provenientes do campo, e que a aplicação de sacarose via solução de *pulsing* (40 g L^{-1} por 15h) reduz tanto a incidência quanto o índice de doença do mofo cinzento, enquanto que o armazenamento das hastes sob exposição contínua ao ozônio reduz a esporulação de *B. cinerea*. Tanto a exposição contínua ao ozônio quanto a aspersão de solução contendo GA_3 e o *pulsing* contendo sacarose não influenciaram a variação de massa, a cor de pétalas e folhagens e a abertura floral das rosas.

5 CONCLUSÕES

O ácido giberélico, aplicado por aspersão, e a sacarose, associada ao ácido cítrico, aplicada por *pulsing*, reduzem a incidência do mofo cinzento em pós-colheita de rosas, e não alteram os atributos de qualidade das hastes.

O ozônio reduz a esporulação de *B. cinerea* em rosas mantidas sob exposição contínua, e não alteram os atributos de qualidade das flores.

O cloreto e sulfato de cálcio e o 1-MCP, aplicados em pós-colheita, não reduzem a incidência do mofo cinzento em rosas 'Avant Garde'.

A aplicação pré-colheita de *Trichoderma harzianum*, aliado ao cloreto de cálcio aplicado um dia antes da colheita, não controla o mofo cinzento em rosas.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRIOS, G.N. Plant diseases caused by fungi. In: AGRIOS, G.N. **Plant Pathology**. 5.ed. San Diego: Elsevier Academic Press, 2004. p. 385-614.

AGROFIT. Relatório de pragas e doenças: Botrytis cinerea em rosas. Disponível em: <http://bi.agricultura.gov.br/reports/rwservlet?agrofit_cons&pragas.rdf&p_id_foto=1507&p_script>. Acesso em: 20 de março de 2010.

AKI, A. Considerações sobre a qualidade em rosas e crisântemos. Disponível em: <http://www.negocioscomflores.com.br/artigos/artigos_publicados_consideracao_rosas_crisantemos.html>. Acesso em: 24 de janeiro de 2008.

ALFENAS, A. C.; FERREIRA, F. A.; MAFIA, R. G.; GONÇALVES, R. C. Isolamento de fungos fitopatogênicos. In: ALFENAS, A. C. & MAFIA, R. G. **Métodos Em Fitopatologia**. 1 ed. Viçosa: Editora UFV, 2007. p. 53 - 91.

ARAUJO, A. E. **Sobrevivência de *Botrytis cinerea* em restos de cultura, efeito de fatores do ambiente sobre o patógeno e progresso do mofo cinzento em roseiras cultivadas em casas de vegetação**. 1995. 112 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Universidade de Viçosa, Viçosa, 1995.

ARAUJO, A.E.; MAFFIA, L. A.; MIZUBUTI, E. S. G.; ALFENAS, A. C.; CAPDEVILLE, G. de; GROSSI, J. A. S. Survival of *Botrytis cinerea* as mycelium in rose crop debris and as sclerotia in soil. **Fitopatologia Brasileira**, v. 30, n.5, p. 516 - 521, 2005.

BARBOSA, J.G.; GROSSI, J.A.S.; PIVETTA, K.F.L.; FINGER, F.L.; SANTOS, J.M. dos. Cultivos de rosas. **Informe Agropecuário**, v. 26, n. 227, p. 20-29, 2005.

BELANGER, R.R.; DOFOUR, N.; CARON, J.; BENHAMOU, N. Chronological events associated with the antagonistic properties of *Trichoderma harzanium* against *Botrytis cinerea* – Indirect evidence for sequencial role of antibiosis and parasitism. **Biological Science and Technology**, v. 5, n. 1, p. 41 – 53, 1995.

BENATO, E.A.; CIA, P.; SOUZA, N.L. Manejo de doenças de frutas pós-colheita. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v. 9, p. 403-440, 2001.

BLAKENSHIP, S.M.; DOLE, J. M. 1-Methylcyclopropene: a review. **Postharvest Biology and Technology**, v. 28, n. 1, p. 1 - 25, 2003.

BRASIL. Ministério do Desenvolvimento Indústria e Comércio Exterior. Sistema Alice Web. Acesso aos dados de exportação mediante senha pessoal. Disponível em: <http://aliceweb.desenvolvimento.gov.br/>. Acesso em: 20 de janeiro de 2008.

CAPDEVILLE, G. .**Controle de *Botrytis cinerea* em rosas por tratamentos pré e pós-colheita**. 1997. 72 p. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1997.

CAPDEVILLE, G.; MAFFIA, L. A.; FINGER, F. L.; BATISTA, U. G. Pre-harvest calcium sulfate applications affect vase life and severity of gray mold in cut roses. **Scientia Horticulture**, v. 103, n. 3, p. 329-338, 2005.

CAPDEVILLE, G.; MAFFIA, L. A.; FINGER, F. L.; BATISTA, U. G. Gray mold severity and vase life of rose buds after pulsing with citric acid, salicylic acid, calcium sulfate, sucrose and silver tiosulfate. **Fitopatologia Brasileira**, v. 28, n. 4, p. 380 - 385, 2003.

CASTRO, C.E.F. Armazenamento de flores de corte. **O Agronômico**, v.36, n.2, p. 193 - 211, 1984.

ÇELIKEL, F. G.; DODGE, L. L.; REID, M. S. Efficacy of 1-MCP (1-methylciclopropene) and Promalin for extending the post-harvest life of Oriental lilies (*Lilium* x 'Mona Lisa' and 'Stargazer'. **Scientia Horticulturae**, v. 93, p. 149 – 155, 2002.

CHAMANI, E.; KHALIGHI, A.; JOYCE, D.C.; IRVING, D.E.; ZAMANI, Z.A.; MOSTOFI, Y.; KAFI, M. Ethylene and anti-ethylene treatment effects on cur 'First Red' roses. **Journal of Applied Horticulture**, v.7, n. 1, p. 3-7, 2005.

CHARDONNET, C.O.; SAMNS, C.E.; TRIGIANO, R.N.; CONWAY, W.S. Variability of three isolates of *Botrytis cinerea* affects the inhibitory effects of calcium on this fungus. **Postharvest Pathology and Mycotoxins**, v. 90, n. 7, p. 769-774, 2000.

CHEOUR, F.; ARUL, J.; MAKHLOUF, J.; WILLEMONT, C. Delay of membrane lipid degradation by calcium chloride during cabbage leaf senescence. **Plant Physiology**, v. 100, p. 1656 – 60, 1992.

COELHO, R.S.B; TERAO, D. Doenças das ornamentais. In; OLIVEIRA, S.M.A; TERAO, D.; DANTAS, S.A.F.; TAVARES, S.C.C.H. (Org.). **Patologia pós-colheita: frutas, olerícolas e ornamentais tropicais**. 1ª ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, p. 805 - 819, 2006.

CZARNY, J.C.; GRICHKO, V.P.; GLICK, B.R. Genetic modulation of ethylene biosynthesis and signaling in plants. **Biotechnology Advances**, v. 24, n. 4, p. 410-9, 2006.

DIAS-TAGLIACOZZO, G. M.; GONÇALVES, C.; CASTRO, C. E. F. de. Manutenção da qualidade pós-colheita de lírio. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, v. 4, n. 1, p. 20 - 25, 1998.

DIAS-TAGLIACOZZO, G.M; CASTRO, C.E.F. Fisiologia da pós-colheita de espécies ornamentais. In: WACHOWICZ, C.M.; CARVALHO, R.I.N. (Org.). **Fisiologia vegetal: produção e pós-colheita.** Curitiba: Champagnat, 2002. p. 359-382. (Coleção Agrárias).

DIAS-TAGLIACOZZO, G. M.; MOSCA, J. L. Pós-colheita de flores e folhagens: Manutenção da qualidade. In: 16º Congresso brasileiro de floricultura e plantas ornamentais. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, v. 13, s.p., 2007. (suplemento).

DICKSON, R. G.; LAW, S. E.; KAYS, S. J.; EITEMAN, M. A. Abatement of ethylene by ozone treatment in controlled atmosphere storage of fruits and vegetables. In: **Proceedings of the International Winter Meeting. American Society of Agricultural Engineering**, p. 1 -

9. 1992.

DIK, A.J. & WUBBEN, J.P. Epidemiology of *Botrytis cinerea* diseases in greenhouses. In: ELAD, Y.; WILLIAMSON, B.; TUDZYNSKI, P.; DELEN, N. ***Botrytis:*** **biology, pathology and control**. 1.ed. Dordrecht: Springer, 2007. p. 319-33.

DROBY, S. & LICHTER, A. Post-harvest *Botrytis* infection: etiology, development and management. In: ELAD, Y.; WILLIAMSON, B.; TUDZYNSKI, P.; DELEN, N. ***Botrytis:*** **biology, pathology and control**. 1.ed. Dordrecht: Springer, 2007. p. 349-68.

ELAD, Y. Involvement of ethylene in disease caused by *Botrytis cinerea* on rose and carnation flowers and the possibility of control. **Annals of Applied Biology**, v. 113, n. 3, p. 589-98, 1988a.

ELAD, Y. Latent infection of *Botrytis cinerea* in rose flowers and combinated chemical and physiological control of the disease. **Crop Protection**, v. 7, p. 361 - 366, 1988b.

ELAD, Y. Responses of plants to infection by Botrytis cinerea and novel means involved in reducing their susceptibility to infection. **Biological Reviews**, v. 72, p. 381-422, 1997.

ELAD, Y; GULLINO, M.L.; SHTIENBERG, D.; ALOI, C. Managing *Botrytis cinerea* on tomatoes in greenhouses in the Mediterranean. **Crop Protection**, v. 14, n.2, p. 105 - 109, 1995.

ELAD, Y. & STEWART, A. Microbial control of *Botrytis* spp. In: ELAD, Y.; WILLIAMSON, B.; TUDZYNSKI, P.; DELEN, N. ***Botrytis:*** **biology, pathology and control**. 1.ed. Dordrecht: Springer, 2007. p. 223-41.

ESTADOS UNIDOS. United States Environmental Protection Agency. **Biopesticide registration action document**:1-Methylcyclopropene (PC Code 224459). 24 p. 1999. Disponível em: <http://www.epa.gov/pesticides/biopesticides/ingredients/tech_docs/brad_224459.pdf>. Acesso em 03 de fevereiro de 2010.

FINGER, F. L.; CAMPANHA, M. M.; BARBOSA, J. G.; FONTES, P. C. R. Influence of ethephon, silver thiosulfate and sucrose pulsing on bird-of-paradise vase life. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 11, p. 119 - 122, 1999.

GONÇALVES, R. C , ALFENAS, A. C.; MAFIA, R. G.;. Armazenamento de microrganismos em cultura com ênfase em fungos fitopatogênicos. In: ALFENAS, A. C. & MAFIA, R. G. **Métodos Em Fitopatologia**. 1 ed. Viçosa: Editora UFV, 2007. p. 92 - 102.

GOSZCZYNSKA, D. M.; ZIESLIN, N.; MOR, Y.; HALEVY, A. H. Improvement of postharvest keeping quality of 'Mercedes' roses by giberellin. **Plant Growth Regulators**, v. 9, p. 293 - 303, 1990.

GOVRIN, E.M. & LEVINE, A. The hypersensitive response facilitates plant infection by the necrotophic pathogen *Botrytis cinerea*. **Current Biology**, v. 10, n. 13, p. 751-7, 2000.

GUTERMAN, I.; SHALIT, M.; MENDA, N.; PIESTUN, D.; DAFNY-YELIN, M.;

SHALEV, G.; BAR, E.; DAVYDOV, O.; OVADIS, M.; EMANUEL, M.; WANG, J.; ADAM, Z.; PICHERSKY, E.; LEWINSOHN, E. ; ZAMIR, D.; VAINSTEIN, A.; WEISS, D. Rose scent: genomics approach to discovering novel floral fragrance–related genes. **Plant Cell**, v. 14, p. 2325-38, 2002.

HAUSBECK, M. K.; MOORMAN, G. W. Managing *Botrytis* in greenhouse-grown flower crops. **Plant Disease**, v. 80, n. 11, p. 1212 - 1219, 1996.

HILDEBRAND, P. D.; FORNEY, C. F.; SONG, J.; FAN, L.; McRAE, K. B. Effect of continuous low ozone exposure (50 n L^{-1}) on decay and quality of stored carrots. **Postharvest Biology and Technology**, v. 49, n. 3, p. 307-402, 2008.

ICHIMURA, K. & HISAMATSU, T. Effects of continuous treatment with sucrose on the vase life, soluble carbohydrate concentrations, and ethylene production of cut snapdragon flowers. **Journal of the Japanese Society of Horticultural Sciences**, v. 68, n. 1, p. 61 – 6, 1999.

JUNQUEIRA, A. H., PEETZ, M. S. Mercado interno para os produtos da floricultura brasileira: características, tendências e importância socio-econômica recente. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, v.8, n. 1/2, p. 25 - 47, 2002.

JUNQUEIRA, A. H., PEETZ, M. S. Os Pólos de Produção de Flores e Plantas Ornamentais do Brasil. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, v. 14, n. 1, p. 37 - 52, 2008.

KADER, A.A. 1992. **Postharvest technology of horticultural crops**. 2.ed. Oakland, Division of Agricultural and Natural Resources.

KOUKOUNARAS, A.; SFAKIOTAKIS, E. Effect of 1-MCP prestorage treatment on ethylene and CO2 production and quality of 'Hayward' kiwifruit during shelf-life after short, medium and long term cold storage. **Postharvest Biology and Technology**, v. 46, n. 2, p. 174-180, 2007.

KRAUSE, C.R. & WEIDENSAUL, T.C. Effects of ozone on the sporulation, germination and pathogenicity of *Botrytis cinerea*. **Phytopathology**, v. 68, p. 195-8, 1978.

KUMAR, N.; SRIVASTAVA, G.C.; DIXIT, K. Flower bud opening and senescence in roses (*Rosa hybrida* L.). **Plant Growth Regulation**, Netherlands, v. 55, n. 2, p. 81-99, 2008.

KYUNA, I.; ANGELO, J.A.; COELHO, P.J. Floricultura: desempenho no comércio exterior em 2007. **Análises e Indicadores Econômicos do Agronegócio**, v. 3, n. 3, p. 1-5, 2008.

LIAO, L-J.; LIN, Y-H.; HUANG, K-L; CHEN, W-S; CHENG, Y-M. Postharvest life of cut rose flowers as affected by silver thiosulfate and sucrose. **Botanical Bulletin of Academia Sinica**, v. 41, p. 299 – 303, 2000.

LYON, G.D.; GOODMAN, B.A.; WILLIAMSON, B. *Botrytis cinerea* perturbs redox processes as an attack strategy in plants. In: ELAD, Y.; WILLIAMSON, B.; TUDZYNSKI, P.; DELEN, N. ***Botrytis:*** **biology, pathology and control**. 1.ed. Dordrecht: Springer, 2007. p. 119-41.

MORANDI, M. A. B.; MAFFIA, L. A.; MIZUBUTI, E. S. G.; ALFENAS, A. C.; BARBOSA, J. G. Supression of *Bortytis cinerea* sporulation by *Clonostachys rosea* on rose debris: a valuable component in *Botrytis* blight management in commercial greenhouses. **Biological Control**, v. 26, p. 311 - 317. 2003.

MORANDI, M. A. B.; MAFFIA, L. A.; SUTTON, J. C. Relationships of aphid and mite infestations to control of *Botrytis cinerea* by *Clonostachys rosea* in Rose (Rosa hybrida) leaves. **Phytoparasitica**, v. 28, n. 1, p. 55 - 64, 2000.

NADAS, A., OLMO, M., AND GARCIA, J. M. Growth of *Botrytis cinerea* and strawberry quality in ozone-enriched atmospheres. **Journal of Food Science**, v. 68, p. 1798-1802, 2003.

NICOUE, E. E.; EMOND, J. P.; VUILLEMARD, J. C.; NUNES, M. C. D. Destruction of *Rhizopus stolonifer* and *Botrytis cinerea* by ozone/ions treatment. **Phytoprotection**, v. 85, n. 2, p. 81-7, 2004.

NOWAK, J., RUDNICKI, R.M. **Postharvest handling and storage of cut flowers, florist greens, and potted plants**. Portland: Timber Press, 1990. 210 p.

PALOU, L.; CRISOTO, C. H.; SMILANICK, J. L.; ADASKAVEG, J. E.; ZOFFOLI, J. P. Effects of continuous 0,3 ppm ozone exposure on decay development and physiological responses of peaches and table grapes in cold storage. **Postharvest Biology and Technology**, v. 24, p. 39 – 48, 2002.

PAULITZ, T. C. & BELANGER, R. R. Biological control in greenhouse systems. **Annual Review of Phytopathology**, v. 39, p. 103 - 33, 2001.

PEREIRA, G. L.; DIAS-TAGLIACOZZO, G. M. Pós-colheita de rosas: cv. 'Vegas' e 'Sayonara'. In: 16º Congresso brasileiro de floricultura e plantas ornamentais. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, v. 13, p. 111 - 114, 2007. (suplemento).

REID, M. S. Rose, spray rose, sweetheart rose: recommendations for maintaining postharvest quality. **Postharvest Technology Research & Information Center**, 2 p., 2004.

REID, M. S. & ÇELIKEL, F. G. Use of 1-methylciclopropene in onrnamentals: Carnations as a model system for understanding mode of action. **HortScience**, v. 43, n. 1, p. 95 – 8, 2008.

REID, M. S.; ÇELIKEL, F. G.; McKAY, A.; HUNTER, D. Use of 1-MCP on floral products. **Perishables Handling Quarterly**, n. 108, p. 7 – 9, 2001.

ROBERTI, R.; BADIALI, F.; VERONESI, A.; PANCALDI, D.; CESARI, A. Sensitivity of *Clonostachys rosea* and *Trichoderma* spp. as potential biocontrol agents to pesticides. **Phytopathology**, v. 154, p. 100 – 109, 2006.

SABEHAT, A & ZIESLIN, N. GA3 effects on postharvest alterations in cell-membranes of rose (*Rosa* x *hybrida*) petals. **Journal of Plant Physiology**, v. 144, n. 4-5, p. 513 – 17, 1994.

SEGLIE, L.; SISLER, E. C.; MIBUS, H. SEREK, M. Use of a non-volatile 1-MCP formulation, N,N-dipropyl(1-cyclopropenylmethyl)amine, for improvement of postharvest quality of ornamental crops. **Postharvest Biology and Technology**, 2010. IN PRESS

SEGLIE, L.; SPADARO, D.; DEVECCHI, M.; LARCHER, F.; GULLINO, M. L. Use of 1-methylciclopropene for the control of *Botrytis cinerea* on cut flowers. **Phytopathologia Mediterranea**, v. 48, n. 2, p. 253 – 261, 2009.

SEREK, M.; SISLER, E.C.; REID, M.S. Effects of 1-MCP on vase life and ethylene responses of cut flowers. **Plant Growth Regulation**, v. 16, p. 93-7, 1995.

SHAUL, O.; ELAD, Y.; ZIESLIN, N. Supression of *Botrytis* blight in cut rose flowers with gibberelic acid: effect of concentration and mode of application. **Postharves Biology and Technology**, v. 6, p. 321-30, 1995.

SINGH, A; KUMAR, J.; KUMAR, P. Effects of plant growth regulators and sucrose on post harvest physiology, membrane stability and vase life of cut spikes of gladiolus. **Plant Growth Regulators**, v. 55, p. 221- 9, 2008.

SINGH, K; SINGH, P.J.; KUMAR, R. Effects of some chemicals on keeping quality of cut roses. **Advances in Horticultural Science**, v.18, n. 4, p. 161-7, 2004.

SMILANICK, J. L. Use of ozone in storage and packing facilities. In: **Proceedings Washington Tree Fruit Postharvest Conference**. WSU - TFREC Postharves Information Network. 10 p. 2003. Disponível em: <http://postharvest.tfrec.wsu.edu/PC2003H.pdf>. Acesso em: 01 de setembro de 2009.

SMITH, W. H., MEIGH, D. F., PARKER, J. C. Effect of damage and fungal infection on the production of ethylene by carnations. **Nature**, v. 204, p. 92 – 93, 1964.

SRIVASTAVA, L.M. Vegetative storage protein, tuberization, senescence and abscision. In: SRIVASTAVA, L.M. **Plant Growth and Development**, San Diego: Academic Press, 2002. p. 473-520.

SUSLOW, T. Basics of ozone applications for postharvest treatment of fruit and vegetables. **Perishables Handling Quarterly Issue**, n. 94, p. 9-11, 1998.

SUTTON, J. C.; LI, D-W.; PENG, G.; YU, H.; ZHANG, P.; VALDEBENITO-SANHUEZA, R. M. *Gliocladium roseum*: A versatile adversary of Botrytis cinerea in crops. **Plant Disease**, v. 81, n. 4, p. 316 - 328, 1997.

SWARTZBERG, D.; KIRSHNER, B.; RAV-DAVID, D.; ELAD, Y.; GRANOT, D. *Botrytis cinerea* induces senescence and is inhibited by autoregulated expression of IPT gene. **European Journal of Plant Pathology**, v. 120, n. 3, p. 289-97, 2008.

TATAGIBA, J. da S.; MAFFIA, L. A.; BARRETO, R. W.; ALFENAS, A. C.; SUTTON, J. C. Biological control of *Botrytis cinerea* in residues and flower of rose (Rosa hybrida). **Phytoparasitica**, v. 26, n. 1, p. 8 - 19, 1998.

TERAO, D.; SILVA, E. de O. Controle alternativo com bloqueador de etileno. In: OLIVEIRA, S.M.A; TERAO, D.; DANTAS, S.A.F.; TAVARES, S.C.C.H. (Org.). **Patologia pós-colheita: frutas, olerícolas e ornamentais tropicais**. 1ª ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, p. 265-287, 2006.

TORRE, S.; BOROCHOV, A.; HALEZY, A.H. Calcium regulation of senescence in rose petals. **Physiologia Plantarum**, v. 107, n. 2, p. 214-219, 1999.

VIRADIA, R.R.; SINGH, S.P. Production of quality roses cv. 'Gladiator' as influenced by nitrogen nutrition and plant density. **Scientific Horticulture**, v. 9, 2004. (abstract).

VOLPIN, H.; ELAD, Y. Influence of calcium nutrition on susceptibility of roses flowers to Botrytis blight. **Phytopathology**, v. 81, n. 11, p. 1390 - 1394, 1991.

WHITEHEAD, C.S.; J. WEERTS, L. O'REILLY; ZAAYMAN, M.M.; GAUM, W. The effect of sucrose pulsing on senescing climacteric cut flowers. **Acta Horticulture**, v. 599, p. 549 – 57, 2003.

WISNIEWSKI, M.; DROBY, S.; CHALUTZ, E; EILAM, Y. Effects of Ca^{2+} and Mg^{2+} on *Botrytis cinerea* and *Penicillium expansum in vitro* and on the biocontrol activity of *Candida oleophila.* **Plant Pathology**, v. 44, p. 1016 - 24, 1995.

YOHALEM, D.S. Evaluation of fungal antagonists for grey mould management in early growth of pot roses. **Annals of Applied Biology**, v. 144, p. 9 - 15, 2004.

YUNIS, H.; ELAD, Y.; MAHRER, Y. Effects of air temperature, relative humidity and canopy wetness on gray mould of cucumbers in unheated greenhouses. **Phytoparasitica**, v. 18, n. 3, p. 203-15, 1990.

ZIESLIN, N.; AGBARIA, H.; ZAMSKI, E. Involvement of gibberellins in development and senescence of rose flowers. **Acta Horticulturae**, v.751, p. 441 – 54, 2007.