



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SECRETARIA DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA
INSTITUTO FEDERAL GOIANO – CAMPUS URUTAÍ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PROTEÇÃO DE PLANTAS

**CONTROLE DE ALGAS E MOSCAS, EM ESPUMA FENÓLICA, PARA
ALFACE SOB SISTEMA HIDROPÔNICO DO TIPO NFT**

Adriano de Souza Pereira da Mata
Engenheiro Agrônomo

URUTAÍ – GOIÁS
2018

ADRIANO DE SOUZA PEREIRA DA MATA

**CONTROLE DE ALGAS E MOSCAS, EM ESPUMA FENÓLICA, PARA
ALFACE SOB SISTEMA HIDROPÔNICO DO TIPO NFT**

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Igor de Azevedo Pereira

Dissertação apresentada ao Instituto Federal Goiano – Campus Urutaí, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Proteção de Plantas para obtenção do título de MESTRE.

Urutaí – GO
2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas – SIBI/IF Goiano Campus Urutaí

M425c Mata, Adriano de Souza Pereira da

Controle de algas e moscas, em espuma fenólica, para alface sob sistema hidropônico do tipo NFT / Campus Urutaí. [manuscrito] / Adriano de Souza Pereira da Mata. -- Urutaí, GO: IF Goiano, 2018. 31 fls.

Orientador: Dr. Alexandre Igor de Azevedo Pereira
Dissertação (Mestrado) – Instituto Federal Goiano - Campus Urutaí, 2018.

1. Fungus gnats. 2. *shore fly*. 3. H₂O₂. 4. Beauveria.
5. Metarhizium. 6. *Lactuca sativa*. 7. Hidroponia. I. Título.

CDU 633



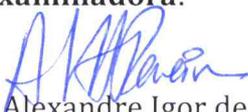
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: Controle de algas e moscas, em espuma fenólica, para alface sob sistema hidropônico do tipo NFT

AUTOR: Adriano de Souza Pereira da Mata

Dissertação defendida e aprovada como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Proteção de Plantas.

Banca Examinadora:


Prof. Dr. Alexandre Igor de Azevedo Pereira (orientador)
Instituto Federal Goiano – Campus Urutaí


Prof.ª Dra. Carmen Rosa da Silva Curvêlo
Instituto Federal Goiano – Campus Urutaí


Prof. Dr. Luiz Leonardo Ferreira
UNIFIMES – Centro Universitário de Mineiros

Urutaí, 26 de fevereiro de 2018

DEDICATÓRIA

Ao meu filho Arthur Rafael Ribeiro da Mata (in memoriam) que foi a inspiração para que eu fizesse esse mestrado. A minha esposa, Ana Cristina, pelo amor, cuidado e companheirismo. Com muito amor e carinho dedico.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar agradecer a Deus pelo dom da vida e oportunidade de desenvolver esse trabalho.

Ao Professor Alexandre Igor Azevedo Pereira, pela orientação, ensinamento, compreensão e dedicação do seu tempo em orientar cada passo e oportunidade de realização deste trabalho.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Proteção de Plantas do Instituto Federal Goiano – Campus Urutaí, pela colaboração na minha formação.

Aos Alunos do Técnico Agropecuária e Agronomia no auxílio na condução do projeto sempre que precisava.

A minha esposa Ana Cristina Oliveira Ribeiro da Mata pela compreensão em todo tempo que fiquei longe de casa para dedicar ao Mestrado e apoiando-me, aconselhando-me e ensinando.

SUMÁRIO

RESUMO.....	vii
ABSTRACT	viii
INTRODUÇÃO	1
OBJETIVOS	3
MATERIAL E MÉTODOS	4
RESULTADOS.....	8
DISCUSSÃO	10
REFERÊNCIAS.....	14
APÊNDICES.....	18

RESUMO

Insetos e algas demonstram adaptabilidade em ambientes hidropônicos. A presença de algas atrai duas espécies de moscas, *Bradysia* spp. (Diptera: Sciaridae) e *Scatella stagnalis* (Diptera: Ephydriidae) conhecidas como fungus gnats e *shore fly*, respectivamente. Essas moscas alimentam-se das algas, podendo danificar as radículas das mudas e transmitir patógenos a plantas adultas. Poucas informações sobre o manejo de moscas e algas são conhecidas, o que é um paradoxo frente a expansão do cultivo vegetal sob hidroponia no Brasil. O presente trabalho teve como objetivo avaliar o potencial do peróxido de hidrogênio (H₂O₂) como agente inseticida (para controle de moscas) e sanitizante (para controle de algas). Fungos entomopatógenos também foram avaliados por serem uma forma mais sustentável de manejo de pragas. O experimento foi conduzido em um sistema hidropônico comercial, sob delineamento em blocos casualizados, com 5 tratamentos e 4 repetições. Os tratamentos, pulverizados nas placas de espuma fenólica, logo após a deposição das sementes, foram H₂O₂ (T1), *Beauveria bassiana* (T2), *Metarhizium anisopliae* (T3), Espinosina (T4) e água (T5), como testemunha. Parâmetros relacionados à qualidade das mudas de alface (cv. Brida), presença de moscas e a evolução das algas nas placas de espuma fenólica (através de escala de notas) foram diariamente registrados. H₂O₂ e Espinosina afetaram a germinação das sementes de alface, mas foram capazes de amortizar a presença de moscas adultas pousadas sobre as placas de espuma fenólica. Os tratamentos com os fungos e apenas água foram aqueles onde o maior número de larvas de ambas as espécies de moscas foi observado, em comparação com H₂O₂. Nenhuma larva de fungus gnats e *shore fly* foi encontrada nas células de espuma fenólica pulverizadas com espinosina. Todavia, as mudas de alface oriundas das placas pulverizadas com Espinosina foram aquelas com menor peso fresco. Para os demais tratamentos, incluindo H₂O₂, o peso fresco das mudas de alface foi superior. H₂O₂ reteve severamente a infestação das algas nas células de espuma fenólica ao longo de 15 dias de observação. O presente trabalho torna a luz do conhecimento o potencial que H₂O₂ pode desempenhar como agente sanitizante (para controle de algas) e inseticida (para controle das moscas fungus gnats e *shore fly*) em ambientes hidropônicos.

Palavras-chave: Fungus gnats, *shore fly*, H₂O₂, *Beauveria*, *Metarhizium*, *Lactuca sativa*, hidroponia.

ABSTRACT

Insects and algae demonstrate adaptability in hydroponic environments. The presence of algae attracts two species of flies, *Bradysia* spp. (Diptera: Sciaridae) and *Scatella stagnalis* (Diptera: Ephydriidae) known as fungus gnats and shore fly, respectively. These flies feed on algae, which can damage the rootlets of the seedlings and transmit pathogens to adult plants. Little information on the management of flies and algae is known, which is a paradox in relation to the expansion of plant cultivation under hydroponics in Brazil. The objective of this work was to evaluate the potential of hydrogen peroxide (H₂O₂) as an insecticidal agent (for control of flies) and sanitizing agent (for algae control). Entomopathogenic fungi have also been evaluated for being a more sustainable form of pest management. The experiment was conducted in a commercial hydroponic system under a randomized complete block design, with 5 treatments and 4 replicates. The treatments, sprayed on the phenolic foam plates, immediately after seed deposition, were H₂O₂ (T1), *Beauveria bassiana* (T2), *Metarhizium anisopliae* (T3), Spinosad (T4) and water (T5) as a control. Parameters related to the quality of lettuce seedlings (Brida cv.), the presence of flies and the evolution of algae in the phenolic foam plates (though the scale of notes) were recorded daily. H₂O₂ and Spinosad affected the germination of lettuce seeds, but were able to amortize the presence of adult flies on the phenolic foam plates. The treatments with fungi and only water were those where the highest number of larvae of both species of flies was observed, compared to H₂O₂. No larvae of fungus gnats and shore fly were found in phenolic foam cells sprayed with Spinosad. However, lettuce seedlings from Spinosad sprayed plates were those with lower fresh weight. For the other treatments, including H₂O₂, the fresh weight of the lettuce seedlings was higher. H₂O₂ severely retained algae infestation in phenolic foam cells over a 15-day observation period. The present work makes the light of knowledge the potential that H₂O₂ can play as a sanitizing agent (for algae control) and an insecticide (for control of fungus gnats and shore fly) in hydroponic environments.

Key-words: Fungus gnats, *shore fly*, H₂O₂, *Beauveria*, *Metarhizium*, *Lactuca sativa*, hydroponics.

INTRODUÇÃO

A produção de alimentos com total atenção às exigências modernas do mercado vem dinamizando a cadeia produtiva de hortaliças folhosas no Brasil (Carvalho Filho & Camargo 2017). A busca por produtos de melhor qualidade e com oferta constante tem induzido agricultores a buscarem sistemas de produção obcecados em atender essas exigências, como forma de obter vantagens comerciais. Como exemplo, agricultores brasileiros buscaram se adaptar à produção de hortaliças orgânicas como forma de atender a qualidade exigida pelos consumidores. Incentivos oriundos de políticas públicas impulsionaram a criação e estabelecimento, até os dias atuais, desse nicho de mercado ainda em expansão (Dalcin et al. 2014). Todavia, os problemas em manter a constante oferta de produtos devido à influência climática exercida em determinadas regiões e épocas do ano, além de fontes de estresse biótico, tem sido um real empecilho (Blanc & Kledal 2012).

Por outro lado, o cultivo de vegetais baseado em soluções nutritivas (e, portanto, sem solo) tem encontrado um amplo espaço mercadológico nas capitais e no interior do Brasil (Costa & Junqueira 2000). A produção de folhas e frutos com melhor qualidade, reduzido emprego de mão-de-obra, colheita precoce, além do menor consumo de água e fertilizantes são vantagens dos sistemas hidropônicos. A oferta constante de alimentos e sem interferência climática também justificam sua expansão, bem como a alta possibilidade de agregação de valor ao produto final. Por outro lado, patógenos, insetos e algas podem ocorrer em estufas agrícolas, demonstrando adaptabilidade a esse tipo de ambiente tão simplificado, do ponto de vista biológico (Lopes et al. 2000, Takikawa et al. 2015).

Algas são comumente presentes nas estruturas físicas que compõem o sistema hidropônico do tipo *nutrient film technique* (NFT). Maiores gastos com mão-de-obra e a necessidade de sobrepor em escala temporal a produção, para atender a demanda frequente por alimentos, levam eventualmente ao descaso com medidas básicas de limpeza. As algas competem por nutrientes, água e luz com os vegetais (Radin et al. 2009). Medidas que reduzem a incidência luminosa, como a cobertura das estruturas físicas por filmes plásticos, tem sido teoricamente reportadas como

eficientes para controle de algas (Vänninen & Koskula 1998). Todavia, requerem maiores gastos para aquisição, tempo para aplicação minuciosa e elevado uso de mão-de-obra tornando-se impraticáveis.

A presença de algas atrai duas espécies de moscas adaptadas ao sistema hidropônico, *Bradysia* spp. (Diptera: Sciaridae) e *Scatella stagnalis* (Diptera: Ephydriidae) conhecidas como *fungus gnats* e *shore fly*, respectivamente. Em estações quentes a sua população aumenta rapidamente (Keates et al. 1989). Essas moscas alimentam-se das algas, podendo inevitavelmente danificar as radículas das mudas vegetais (Epenhuijsen et al. 2001). O papel dessas moscas em transmitir patógenos (de forma horizontal) aos vegetais também é comprovado (Keates et al. 1989, El-Hamalawi 2008, Radin et al. 2009). A associação entre algas, moscas e patógenos pode potencializar prejuízos na quantidade e qualidade dos alimentos produzidos nos sistemas hidropônicos (Radin et al. 2009).

Diante desse cenário, agentes sanitizantes e inseticidas sintéticos de amplo espectro tem sido utilizados para controle de algas e moscas, respectivamente, de maneira informal e pouco técnica. A busca por um produto de múltiplo uso que auxilie na assepsia das estruturas físicas e, ao mesmo tempo, elimine a infestação de moscas no ambiente hidropônico é urgente. O presente trabalho teve como objetivo avaliar a eficiência do peróxido de hidrogênio (H_2O_2), como agente sanitizante (para controle de algas) e inseticida (para controle de moscas), em um sistema comercial hidropônico. H_2O_2 possui reconhecido potencial em causar estresse oxidativo em organismos vivos (Vänninen & Koskula 1998, Qin et al. 2011, Wojtyla et al. 2016) e amplo uso como desinfetante e esterilizante (Watt et al. 2004). A avaliação de fungos entomopatógenos, com vistas a substituir inseticidas sintéticos, no controle de *fungus gnats* e *shore fly* também foi explorada por ser uma forma mais sustentável de controle de moscas (Stanghellini & El-Hamalawi 2005) e demais insetos vetores (Tiago et al. 2014), em sistema hidropônico.

OBJETIVOS

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a eficiência do peróxido de hidrogênio (H_2O_2), como agente sanitizante (para controle de algas) e inseticida (para controle de moscas), em um sistema comercial hidropônico.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no mês de maio de 2018 em um sistema hidropônico comercial, com foco na produção de hortaliças folhosas, localizado no município de Pires do Rio, estado de Goiás (latitude: 17° 17' 59" S, longitude: 48° 16' 46" W e altitude: 758 m). A temperatura média foi de 24,5°C e a umidade relativa média foi de 60%, ambas no interior da estufa. O tipo climático do município de Pires do Rio é tropical semiúmido (tropical-AW), pela classificação de Köppen, sendo quente na primavera e verão e ameno no outono e inverno.

A estufa do tipo convencional (modelo Hidrogood®), onde o experimento foi conduzido, foi instalada com o eixo longitudinal no sentido leste-oeste para reduzir o sombreamento interno. Arcos de polipropileno, filme plástico na cobertura (150 µ, aditivada contra raios ultravioleta) e tela tipo sombrite na lateral constituíram a estrutura da estufa. As dimensões totais da estufa foram de 5 m de altura (pé direito), 50 m de largura e 100 m de comprimento.

A cultivar de alface Brida (Hortec Tecnologia de Sementes Ltda) (Bragança Paulista, SP, Brasil) foi utilizada. Essa cultivar produz plantas adultas grandes e vigorosas, com folhas repicadas nos bordos de coloração verde médio e com brilho. A cultivar Brida é recomendada para a estação de verão, porém pode ser plantada em outras estações do ano, seja em campo ou hidroponia. Possui excelente padrão, grande número de folhas, colheita uniforme e é tolerante ao pendoamento precoce, bem como queima dos bordos. O ciclo da germinação até a colheita é 60 a 70 dias. Possui alta resistência ao *Lettuce Mosaic Virus* (LMV), resistência moderada a septoriose (*Septoria lactucae*) e resistência a queima dos bordos.

A área utilizada para germinação das sementes de alface foi composta por uma mesa de germinação, com capacidade para 100 placas, com 1,15 m de altura do chão, 30 m de comprimento e 3 m de largura. A mesa foi composta por seis canaletas de alumínio, com largura de 5 cm, comprimento de 30 m e espaçadas entre si a cada 60 cm. Bandejas plásticas (60 cm x 40 cm), com 1 cm de profundidade, foram utilizadas para apoiar cada placa de espuma fenólica sobre as canaletas de alumínio. A declividade da mesa foi de 3%. Apenas a área de germinação da estufa foi necessária para instalação e condução dos experimentos, não havendo a

necessidade de utilização das áreas para berçário e crescimento da hidroponia (do tipo NFT).

A semeadura foi realizada com auxílio de um tabuleiro semeador manual, para sementes peletizadas, onde ocorreu deposição de apenas uma semente de alface por célula (cuja dimensão foi 2 x 2 x 2 cm, de formato cúbico). As placas de espuma fenólica continham cada uma, 345 células. Após a semeadura cada placa de espuma fenólica, contendo as sementes, foi coberta com um pano umedecido acima do nível das sementes para manter a umidade e sombreamento por três dias seguidos ou até a germinação, que foi diariamente observada de forma visual. As placas foram irrigadas por cinco dias seguidos após a semeadura com água potável e, em seguida, com solução nutritiva, diariamente, semelhante àquela proposta por Bezerra Neto et al. (2010).

Logo após a deposição das sementes de alface nas placas de espuma fenólica, portanto antes da germinação, ocorreu a aplicação dos tratamentos constituídos por (T1) água oxigenada (H₂O₂), (T2) *Beauveria bassiana*, (T3) *Metarhizium anisopliae*, (T4) Espinosina e (T5) água, como testemunha. Utilizou-se 2 litros de H₂O₂ para 100 litros de água e regulou-se o pH dessa solução com ácido fosfórico (10 ml/100 litros). A dose de *B. bassiana* foi de 50 gramas/20 litros de água, enquanto que para *M. anisopliae* utilizou-se 17 gramas/20 litros de água. O inseticida Espinosina foi aplicado na dose de 10 ml/1 litro de água. As doses foram ajustadas para recipientes com capacidade de 2 litros onde ocorreu a pulverização (de forma manual) das placas de espuma fenólica contendo as sementes de alface, apenas uma vez. Cada placa recebeu um volume de calda de 1 litro de solução, respeitando-se os tratamentos.

O experimento seguiu um delineamento em blocos casualizados, com 5 tratamentos e 4 repetições. No quarto dia após a semeadura iniciou-se o registro da germinação das sementes de alface, que durou 15 dias seguidos (tempo requerido pela cultivar para transplante) e em horários diários semelhantes (17 horas). O número de moscas adultas pousadas sobre as placas foi registrado de forma visual, diariamente, a partir da germinação das sementes. Nessa ocasião, não houve distinção entre as duas espécies de moscas adultas devido à sua aparente semelhança visual.

Logo após o 15º dia, todas as quatro placas de espuma fenólica (repetições), por tratamento, contendo as mudas de alface, foram transferidas para laboratório localizado no Instituto Federal Goiano, Campus Urutaí (Urutaí, Goiás, Brasil), onde o número de larvas presentes por placa foi registrado. Na ocasião, todas as 345 células, por placa, foram separadas individualmente e cortadas, com auxílio de um estilete manual, em 10 seções transversais de igual tamanho para se observar a presença de larvas de *fungus gnats* e *shore fly*. Nessa etapa ocorreu diferenciação entre as duas espécies de moscas devido às diferenças morfológicas facilmente detectáveis. Apesar das análises destrutivas, as mudas de alface, presentes em cada célula, foram preservadas para quantificação do seu peso fresco (mg) de forma imediata.

A evolução (em dias) da incidência de algas nas células das placas de espuma fenólica foi contabilizada a partir da deposição das sementes de alface nas células. Uma escala com cinco diferentes notas foi sugerida para diagnosticar a presença (ou não) das algas, bem como sua quantidade. Para isso utilizou-se um ranking com escalas de 0, 25, 50, 75 e 100% das células com presença de algas (ver Figura 5A).

A comparação entre tratamentos para a germinação acumulada das sementes de alface foi realizada através de figuras de regressão, considerando o intervalo de tempo como importante medida informativa sobre a dinâmica da germinação em vegetais (Ranal & Santana 2006). Nesse caso, o melhor modelo ajustado foi do tipo sigmoide ($y = a / (1 + \exp(-(x-x_0)/b))$). Diversos modelos de regressão foram previamente comparados através do seu comportamento visual e, adicionalmente, através dos valores de R^2 obtidos pelo programa SigmaPlot® versão 11 (Systat Software Inc). O mesmo procedimento foi realizado para a variável independente de moscas adultas pousadas nas placas. Nesse caso, a regressão do tipo exponencial (modelo de Stirling) ($y = y_0 + a * (\exp(b*x) - 1) / b$) foi aquele que apresentou melhor ajuste, para representação dos tratamentos.

Os dados referentes ao número de larvas presentes nas placas seguiram distribuição normal e, portanto, uma análise de variância foi realizada para diagnosticar a existência de diferença (ou não) entre tratamentos. Após essa prévia diagnose, as médias dos tratamentos foram comparadas entre si através do teste de Tukey a 5% de probabilidade. O mesmo procedimento foi realizado para a variável independente peso fresco das mudas.

Para fins de comparação de como ocorreu a evolução da infestação de algas nas placas de espuma fenólica, em função dos tratamentos, uma análise visual foi apresentada graficamente através dos valores médios de infestação (%) por tratamento em função dos dias após a semeadura. Como os dados de evolução da infestação de algas não seguiram distribuição normal, o teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis foi utilizado. Nesse caso, verificamos se ao menos uma amostra dominou estocasticamente uma outra amostra, ou seja, se houve diferença entre tratamentos. A evolução da presença das algas de forma ilustrativa foi mantida para facilitar a visualização das diferenças entre os tratamentos (e ao longo dos dias de avaliação), pois o teste de Kruskal-Wallis não identifica onde a dominância estocástica ocorre ou para quantos pares de grupos se obtém tal dominância.

RESULTADOS

O percentual de sementes germinadas de alface, ao longo do intervalo de tempo, sofreu influência dos tratamentos (Figura 1). O modelo sigmoidal de regressão descreveu com melhores ajustes o comportamento diário de germinação das sementes, em função dos tratamentos (Figura 1). Os valores de R^2 ; F e P que descrevem o ajuste dos dados de germinação obtidos ao modelo de regressão sigmoidal foram, respectivamente, 99,69; 1772,31 e $<0,0001$ (H_2O_2), 99,43; 953,78 e $<0,0001$ (*Beauveria bassiana*), 98,72; 425,63 e $<0,0001$ (*Metarhizium anisopliae*), 99,20; 686,15 e $<0,0001$ (Espinosina) e 99,61; 1419,11 e $<0,0001$ (água). Aos quatro dias após a semeadura, apenas 27% e 25,7% das sementes haviam germinado nos tratamentos sob pulverização com água oxigenada e Espinosina, respectivamente. No mesmo intervalo de tempo, os valores de germinação foram de 46,8 %, 55,40% e 53,80% para os tratamentos *B. bassiana*, *M. anisopliae* e água, respectivamente (Figura 1). Os valores de germinação das sementes de alface submetidas aos tratamentos água oxigenada e Espinosina mantiveram-se abaixo dos demais tratamentos até o final das avaliações (15º dia após a semeadura). As médias totais (com respectivos erros padrões) para a germinação das sementes de alface, durante todo o período de avaliação, foram de 69,96% ($\pm 7,91$) para água oxigenada, 77,61% ($\pm 8,93$) para *B. bassiana*, 79,18% ($\pm 7,78$) para *M. anisopliae*, 65,45% ($\pm 8,90$) para Espinosina e 78,77% ($\pm 8,15$) para água.

Os tratamentos H_2O_2 (T1) e Espinosina (T4) foram capazes de amortizar a presença de moscas adultas (*fungus gnats* e *shore fly*) observadas em atividade de pouso sobre as placas de espuma fenólica (Figura 2). No entanto, nos tratamentos *B. bassiana*, *M. anisopliae* e água a quantidade de moscas pousadas nas placas foi superior em três vezes em comparação com os tratamentos T1 e T4 (Figura 2). O número de moscas pousadas nas placas de espuma fenólica, em função dos tratamentos, ajustou-se ao modelo exponencial de regressão (modelo de Stirling) com os seguintes parâmetros para as curvas de regressão e, portanto, escolha do modelo: água oxigenada ($R^2 = 96,13$; $F = 175,10$ e $P < 0,0001$), *B. bassiana* ($R^2 = 92,06$; $F = 82,19$ e $P < 0,0001$), *M. anisopliae* ($R^2 = 93,92$; $F = 109,10$ e $P < 0,0001$), Espinosina ($R^2 = 98,05$; $F = 352,13$ e $P < 0,0001$) e água ($R^2 = 94,35$; $F = 117,87$ e $P < 0,0001$).

O número de larvas de *shore fly* ($P= 0,03$) e *fungus gnats* ($P= 0,04$) presentes no interior das células das placas com espuma fenólica variou em função dos tratamentos avaliados (Figura 3). O tratamento *B. bassiana* foi aquele onde o maior número de larvas de *shore fly* foi observado, com média de $304,00 \pm 18,00$ larvas por placa, seguido pelos tratamentos com *M. anisopliae* ($248,00 \pm 17,20$ larvas), água ($200,00 \pm 20,00$ larvas) e H_2O_2 ($72,00 \pm 14,00$ larvas) (Figura 3). No caso das larvas de *fungus gnats*, o tratamento que propiciou maior quantidade de larvas foi aquele onde as placas foram pulverizadas com *M. anisopliae* ($298,00 \pm 22,00$ larvas), seguido por água ($284,00 \pm 17,20$ larvas), *B. bassiana* ($132,00 \pm 14,00$ larvas) e H_2O_2 ($24,00 \pm 4,00$ larvas) (Figura 3). Para ambas espécies de moscas, nenhuma larva foi encontrada quando as placas de espuma fenólica foram pulverizadas com Espinosina (Figura 3).

O peso fresco das mudas de alface sofreu influência dos tratamentos ($P= 0,03$) (Figura 4). As mudas de alface oriundas das placas pulverizadas com Espinosina foram aquelas com menor peso fresco ($0,65 \pm 0,10$ mg) ao final do período de avaliação. Para os demais tratamentos, o peso fresco das mudas de alface não variou com média de $1,29$ mg (Figura 4).

A utilização da escala de notas para a incidência de algas nas células das espumas fenólicas (Figura 5A) demonstrou ser útil para observar a evolução da infestação ao longo do tempo. Em todos os tratamentos ocorreu aumento da presença de algas nas células de espuma fenólica ao longo do tempo, com valores iniciais partindo de 0% (1º dia após a semeadura) a até 100% (15º dia após a semeadura) de infestação pelas algas. O período de início da colonização pelas algas iniciou-se a partir do 9º dia após a semeadura do alface, principalmente, no tratamento onde o fungo *M. anisopliae* foi previamente pulverizado (Figura 5B). Houve diferença significativa para a infestação das algas entre tratamentos no 9º ($H=89,32$; $P= 0,02$), 10º ($H=101,23$; $P= 0,01$), 11º ($H=90,12$; $P= 0,02$), 12º ($H=112,89$; $P= 0,001$), 13º ($H=113,76$; $P= 0,004$), 14º ($H=98,21$; $P= 0,001$) e 15º dia após a semeadura ($H=130,40$; $P < 0,05$). Na Figura 5C o número (%) final de células infestadas com algas foi explorado, através dos gráficos de barras verticais, com foco no último dia de avaliação (15º dia após a semeadura). Nesse caso, no tratamento onde ocorreu pulverização prévia com H_2O_2 , $62,31 \pm 2,30\%$ da placa de espuma fenólica não

continha presença de algas (Figura 5C). Para o tratamento com Espinosina $36,23 \pm 5,21\%$ das células também não tinham presença de algas (Figura 5C). Todavia, nos demais tratamentos (os dois fungos entomopatogênicos e água) todas as células presentes nas placas de espuma fenólica apresentaram infestação de 100% de algas (Figura 5C).

DISCUSSÃO

H₂O₂ tem sido usado para diversas finalidades, mas destaca-se como agente desinfetante e esterilizante (Watt et al. 2004). Mesmo assim, seu uso em sistemas hidropônicos para fins de higienização de estruturas físicas ainda é pouco esclarecido em comparação com outros compostos oxigenados, como o NaOH e KOH (Bezerra Neto et al. 2010). O uso do H₂O₂ como agente de controle de insetos também é esporadicamente investigado, principalmente em ambientes protegidos. No presente trabalho, H₂O₂ reduziu o número de moscas adultas pousadas e o número de larvas presentes nas células da espuma fenólica, devido ao seu potencial em causar estresse oxidativo em organismos vivos (Zhang et al. 2016). Além disso, H₂O₂ conteve drasticamente a evolução do crescimento das algas nas placas, reduzindo com isso a colonização por *fungus gnats* e *shore fly* que são comumente associadas com incidências de algas (Keates et al. 1989, Vänninen & Koskula 1998). Tais resultados indicam o potencial do H₂O₂ como agente de controle dessas moscas, além de algas em sistemas de produção de alface do tipo hidropônico.

Apesar das vantagens acima descritas, H₂O₂ interferiu na germinação das sementes de alface. Mudanças de pepino tiveram menor crescimento imediatamente após a exposição a doses maiores de peróxido de hidrogênio (125 ppm), mas se recuperaram da fitotoxicidade dias depois (Vänninen & Koskula 1998). A concentração utilizada e o estágio fenológico do vegetal no momento da exposição podem inesperadamente modificar o *status* do H₂O₂ como uma molécula tóxica ou não às plantas (Wojtyla et al. 2016). Para elucidar, de forma mais coerente, o efeito da exposição do H₂O₂ na germinação em sementes de alface, um trabalho com foco na diluição dessa molécula, através de investigações do tipo dose-resposta, está em

curso. Compostos oxigenados são moléculas altamente reativas e com grande potencial oxidativo, o que a torna capaz de interagir com diversas biomoléculas presentes em sementes vegetais (incluindo ácidos nucleicos, proteínas e lipídios) (Wojtyla et al. 2016). Dessa forma, as sementes de alface expostas ao H_2O_2 podem ter sofrido danos celulares devido ao estresse oxidativo. Os reais efeitos do peróxido de hidrogênio na fisiologia vegetal tem sido objeto de debate nas últimas décadas, com resultados apontando benefícios dessa molécula incrementando a resistência contra fontes de estresse abiótico (por exemplo, o estresse salino) (Niu & Liao 2016).

A interferência negativa do inseticida Espinosina sob a alface (principalmente na germinação das sementes e no peso fresco das mudas) comprova que inseticidas podem afetar o desenvolvimento de organismos não-alvo, incluindo vegetais (DeLorenzo et al. 2001). Essa justificativa também se aplica ao fato desse inseticida ter retardado o crescimento das algas nas placas de espuma fenólica ao longo do tempo. A época de exposição (imediatamente após a semeadura) pode ter potencializado seu efeito tóxico, como observado por Shakir et al. (2015) em sementes de tomate. Isso demonstra a sensibilidade de sementes à exposição por inseticidas. Por outro lado, o peso seco de flores, pedúnculos, folhas e raízes de *Gerbera jamesonii* (Asteraceae) expostas a Espinosina (concentrações de 1x e 4x a mais da recomendada) não foram afetados quando o inseticida foi aplicado nas mudas (Spiers et al. 2006). Shakir et al. (2015) também observaram que baixas concentrações de inseticidas estimularam a germinação de sementes de tomate, enquanto que altas doses atuaram como inibidores. Dessa forma, devido à complexidade de fatores potencialmente capazes em interferir na germinação das sementes de alface, sugerimos que aplicações de inseticidas para controle de insetos-praga em sistemas de cultivo do tipo hidropônico devam ser evitadas nas fases iniciais (como sementes). As infestações por *fungus gnats* e *shore fly* são veridicamente associadas com a presença de algas (Keates et al. 1989). Portanto, como a presença das algas nas placas iniciou a partir do 8º dia após a semeadura, talvez esse seria um período mais seguro para a aplicação de inseticidas de forma preventiva para fins de controle das moscas, reduzindo o risco de efeitos adversos nas sementes.

O inseticida Espinosina, oriundo de metabólitos secundários sintetizados por actinomicetos de solo, é aprovado para uso em sistemas orgânicos de produção

agrícola para controle de tripses, Lepidoptera e moscas (Weintraub et al. 2017). Todavia, tem sido definido como de amplo espectro devido ao sítio de ação estar situado no sistema nervoso (Salgado et al. 1998). Biopesticidas que atuam como reguladores de crescimento de insetos tem sido mais específicos e, portanto, utilizados amplamente em estufas (Weintraub et al. 2017). Isso pode impedir o efeito negativo de inseticidas em organismos não-alvo presentes no sistema hidropônico, sejam eles invertebrados ou vegetais. Populações de inimigos naturais podem estar presentes em sistemas hidropônicos de forma natural (Vänninen & Koskula 1998) ou através de liberações artificiais (Gerson & Weintraub 2007), o que enfatiza a real necessidade de utilizar inseticidas mais seletivos.

Os dois fungos entomopatógenos avaliados foram inócuos na germinação das sementes e peso fresco das mudas de alface. Todavia, não foram eficientes em controlar ambas as espécies de moscas na fase adulta e de larva, nem para conter a evolução das algas nas espumas fenólicas. Resultados semelhantes foram observados por Andreadis et al. (2016). Segundo esses autores, *B. bassiana* (cepa GHA) não demonstrou interferência na produção do cogumelo champignon *Agaricus bisporus* (Agaricaceae), nem como no controle de *fungus gnats* nas fases de larva e adulto. Em contraste aos nossos resultados e aqueles descritos por Andreadis et al. (2016), Stanghellini & El-Hamalawi (2005) observaram alta mortalidade de larvas e adultos de *shore fly* expostos a *Beauveria bassiana*. Nesse caso, os autores identificaram e isolaram uma cepa encontrada previamente em cadáveres de *shore fly* adultos. A (1) simplificação do ambiente onde aquele ensaio foi conduzido (exposição dos insetos mantidos em placas de Petri) e a (2) prévia seleção de uma cepa de *B. bassiana* altamente virulenta podem ter influenciado na alta mortalidade encontrada.

Apesar da ausência de eficiência para *fungus gnats* e *shore fly* observada, o controle microbiológico de pragas presentes em sistemas hidropônicos pode gerar muitas novas perspectivas, como a substituição do uso de inseticidas. Outros grupos de insetos, como tripses e pulgões, demonstram maior susceptibilidade a *B. bassiana* e *M. anisopliae* (Fournier & Brodeur 2000, Lopes et al. 2000). *Metarhizium anisopliae* (isolado 1104) demonstrou eficiência de 60%, seis dias após a primeira pulverização, sobre *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae) em ensaios conduzidos em

sistema hidropônico (Lopes et al. 2000). O uso simultâneo do H₂O₂ (nosso tratamento mais eficiente) e fungos entomopatógenos em ambientes de produção vegetal mais simplificados, do ponto de vista biológico (como sistemas hidropônicos), pode vir a ser uma realidade, em se tratando de controle de insetos praga. Zhang et al. (2016) comprovaram que o H₂O₂ pode aumentar a produção de micotoxinas e, com isso, a virulência em *B. bassiana*, devido ao estímulo desencadeado pelo estresse oxidativo. Isso sugere a existência de uma possível compatibilidade entre os tratamentos avaliados no presente trabalho. Todavia, o efeito dessa provável sinergia precisa ser convenientemente testado em se tratando do manejo das moscas *fungus gnats* e *shore fly*.

Problemas com a presença de algas e, conseqüentemente, distúrbios nas populações de moscas podem ser drasticamente controlados se todos os procedimentos recomendados de higiene forem praticados (Epenhuijsen et al. 2001). No entanto, essa premissa é difícil de ser implementada em sistemas hidropônicos comerciais, devido ao gasto com mão-de-obra requerida e a sobreposição frequente de cultivos. Isso requer a necessidade de uso de produtos com várias funções biológicas (como sanitária e pesticida). O presente trabalho torna a luz do conhecimento o potencial que H₂O₂ pode desempenhar em sistemas hidropônicos como agente sanitizante e controlador de *fungus gnats* e *shore fly*. Esses insetos comumente são presentes nas espumas fenólicas utilizadas como substrato para germinação das sementes de alface. Potenciais futuros problemas também podem ser dirimidos como o uso do H₂O₂, uma vez que moscas são transmissores horizontais de patógenos aos vegetais (El-Hamalawi 2008) e pelo fato de investigações terem demonstrado a ação antifúngica do peróxido de hidrogênio (Qin et al. 2011).

REFERÊNCIAS

- Andreadis, S. S.; Cloonan, K. R.; Bellicanta, G. S.; Paley, K.; Pecchia, J.; Jenkins, N. E. Efficacy of *Beauveria bassiana* formulations against the fungus gnat *Lycoriella ingenua*, **Biological Control**. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biocontrol.2016.09.003>. 2016.
- Bezerra Neto E.; Santos, R. L.; Pessoa, P. M. A.; Andrade, P. K. B.; Oliveira, S. K. G. & Mendonça, I. F. Tratamento de espuma fenólica para produção de mudas de alface. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**. 5: 418-422. 2010.
- Blanc, J. & Kleda, P.R. The Brazilian organic food sector: Prospects and constraints of facilitating the inclusion of smallholders. **Journal of Rural Studies**. 28: 142-154. 2012.
- Camargo Filho, W. P. & Camargo, F. P. A quick review of the production and commercialization of the main vegetables in Brazil and the world from 1970 to 2015. **Horticultura Brasileira**. 35: 160-166. 2017.
- Costa, J. S. & Junqueira, A. M. R. Diagnóstico do cultivo hidropônico de hortaliças na região do Distrito Federal. **Horticultura Brasileira**. 18: 49-52. 2000.
- Dalcin, D.; Souza, A. R. L.; Freitas, J. B.; Padula, A. D.; & Dewes, H. Organic products in Brazil: from an ideological orientation to a market choice. **British Food Journal**. 116: 1998-2015. 2014.
- DeLorenzo, M. E.; Scott, G. I.; Ross, P. E. **Toxicity of pesticides to aquatic microorganisms: a review**. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 20: 84-98. 2001.
- El-Hamalawi, Z. A. Acquisition, retention and dispersal of soilborne plant pathogenic fungi by fungus gnats and moth flies. **Annals of Applied Biology**. 153: 195-203. 2008.

Epenhuijsen, C. W. V.; Page, B. B. C.; & Koolaard, J. P. Preventative treatments for control of fungus gnats and shore flies. **Horticultural Insects**. New Zealand Plant Protection. 54: 42-46. 2001.

Fournier, V. & Brodeur, J. Dose response susceptibility of pest aphids (Homoptera: Aphididae) and their control on hydroponically grown lettuce with the entomopathogenic fungus *Verticillium lecanii*, *Azadirachtin*, and insecticidal soap. **Environmental Entomology**. 29: 568-578. 2000.

Gerson, U. & Weintraub, P.G. Mites for the control of pests in protected cultivation. **Pest Management Science**. 63:658–676. 2007.

Keates, S. E.; Sturrock, R. N. & Sutherland, J. R. Populations of adult fungus gnats and shore flies in British Columbia container nurseries as related to nursery environment, and incidence of fungi on the insects. **New Forests**. 3: 1-9. 1989.

Lopes, R. B.; Alves, S. B. & Tamai, M. A. Fungo *Metarhizium anisopliae* e o controle de *Frankliniella occidentalis* em alface hidropônico. **Scientia Agricola**. 57: 239-243. 2000.

Niu, L. & Liao, W. Hydrogen peroxide signaling in plant development and abiotic responses: cross talk with nitric oxide and calcium. **Frontiers in Plant Science**. 7: article 230. 2016.

Qin, G.; Liu, J.; Cao, B.; Li, B. & Tian, S. Hydrogen peroxide acts on sensitive mitochondrial proteins to induce death of a fungal pathogen revealed by proteomic analysis. *PlosOne*. 6: e 21945 . 2011.

Radin, B.; Wolff, V. R. S.; Lisboa, B. B.; Witter, S. & Silveira, J. R. P. *Bradysia* sp. em morangueiro. **Ciência Rural**. 39: 547-550. 2009.

Ranal, M. A. & Santana, D. G. How and why to measure the germination process?

Revista Brasileira de Botânica. 29: 1-11. 2006.

Salgado, V. L.; Sheets, J. J.; Watson, G. B. & Schmidt, A. L. Studies on mode of action of Spinosad: the internal effective concentration and the concentration dependence of neural excitation. **Pesticide Biochemistry and Physiology.** 60: 103-110. 1998.

Shakir, S. K.; Kanwal, M.; Murad, W.; Rehman, Z. U.; Rehman, S. U.; Daud, M. K. & Azizullah, A. Effect of some commonly used pesticides on seed germination, biomass production and photosynthetic pigments in tomato (*Lycopersicon esculentum*). **Ecotoxicology.** 25: 329-341. 2015.

Spiers, J. D.; Davies Jr, F. T.; He, C.; Bográn, C. E.; Heinz, K. M.; Starman, T. W & Chau, A. Effects of insecticides on gas exchange, vegetative and floral development, and overall quality of Gerbera. **HortScience.** 41: 701-706. 2006.

Stanghellini, M.E & El-Hamalawi, Z. A. Efficacy of *Beauveria bassiana* on colonized millet seed as a biopesticide for the control of shore flies. **HortScience.** 40: 1384-1388. 2005.

Takikawa, Y.; Matsuda, Y.; Kakutani, K.; Nonomura, T.; Kusakari, S.; Okada, K.; Kimbara, J.; Osamura, K. & Toyoda, H. Electrostatic insect sweeper for eliminating whiteflies colonizing host plants: a complementary pest control device in an electric field screen-guarded greenhouse. **Insects.** 6: 442–454. 2015.

Tiago, P.V.; Oliveira, N. T. & Lima, E. A. L. A. Biological insect control using *Metarhizium anisopliae*: morphological, molecular, and ecological aspects. **Ciência Rural.** 44: 645-651. 2014.

Vanninen, I. & Koskula, H. Effect of hydrogen peroxide on algal growth, cucumber seedlings and the reproduction of shore flies (*Scatella stagnalis*) in rockwool. **Crop Protection.** 17: 547-553. 1998.

Watt, B. E.; Proudfoot, A. T. & Vale, J. A. **Hydrogen peroxide poisoning.** Toxicological

Reviews. 23: 51-57. 2004.

Weintraub, P.G.; Recht, E.; Mondaca, L. L.; Harari, A. R.; Diaz, B. M. & Bennison, J. Arthropod pest management in organic vegetable greenhouses. **Journal of Integrated Pest Management**. 8: 1-14. 2017.

Wojtyla, L.; Lechowska, K.; Kubala, S. & Garnczarska, M. Different modes of hydrogen peroxide action during seed germination. **Frontiers in Plant Science**. 7: article 66. 2016.

Zhang, C.; Wang, W.; Lu, R.; Jin, S.; Chen, Y.; Fan, M.; Huang, B.; Li, Z. & Hu, F. Metabolic responses of *Beauveria bassiana* to hydrogen peroxide-induced oxidative stress using an LC-MS-based metabolomics. 2016.

APÊNDICES

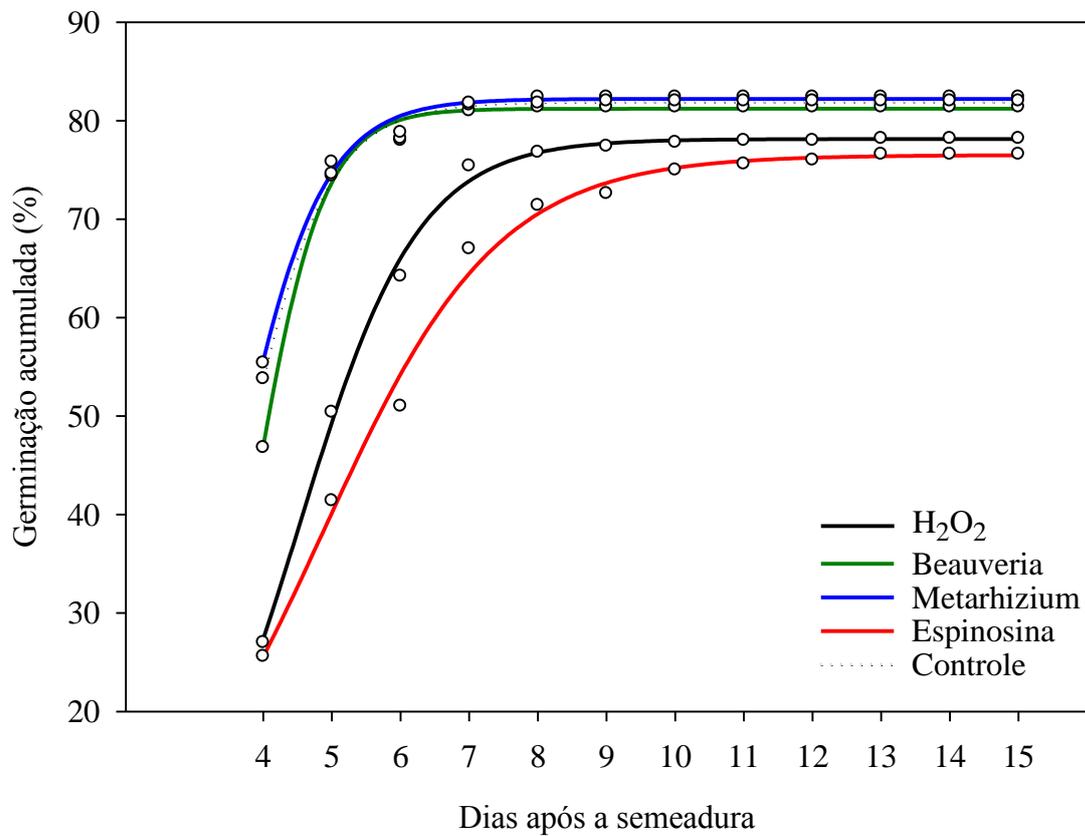


Figura 1. Valores observados (círculos) e estimados (linhas coloridas e pontilhada), através de modelo de regressão sigmoidal, para a germinação (%) acumulada de sementes de alface (cultivar Brida) ao longo do tempo (dias após a semeadura). As placas de germinação, contendo uma semente por célula, foram pulverizadas com H₂O₂ (T1), *Beauveria bassiana* (T2), *Metarhizium anisopliae* (T3), Espinosina (T4) e Água (T5).

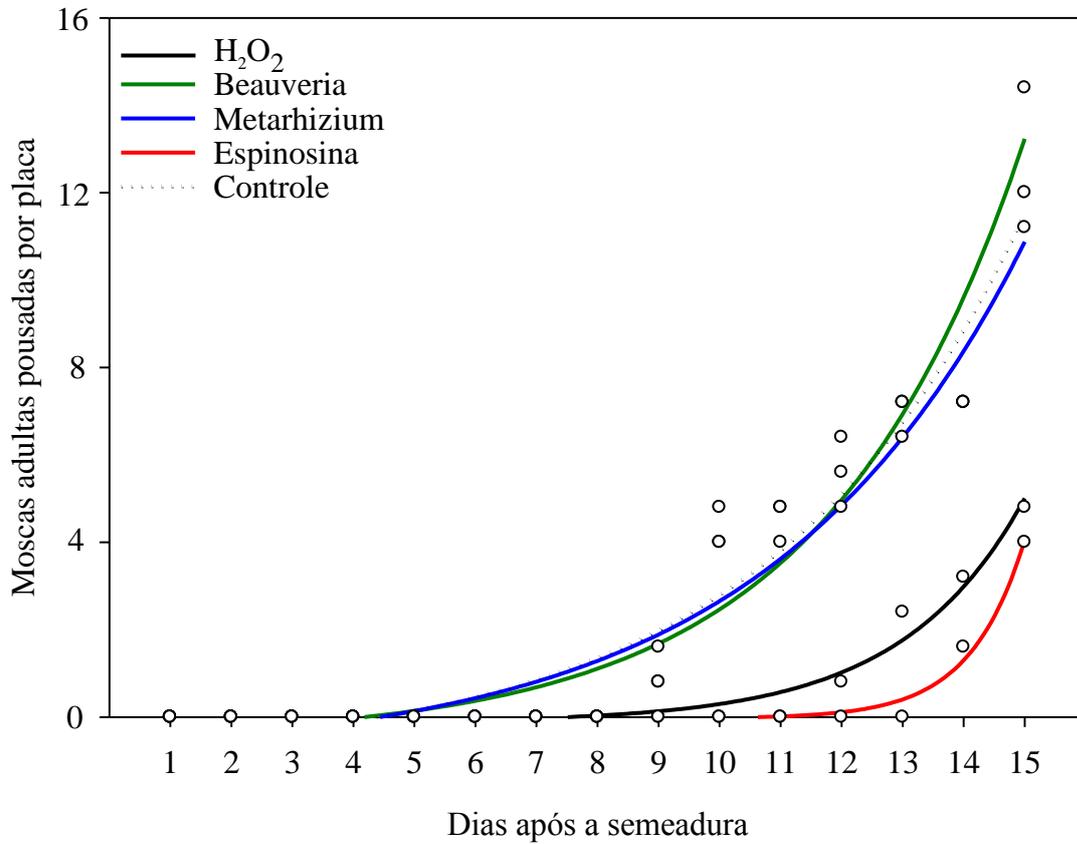


Figura 2. Total acumulado de moscas adultas de *fungus gnats* e *shore fly* pousadas por placa de espuma fenólica, através de modelo de regressão exponencial com valores observados (círculos) e estimados (linhas coloridas e pontilhada) ao longo do tempo (dias após a semeadura). As placas de germinação, contendo uma semente por célula, foram pulverizadas com H₂O₂ (T1), *Beauveria bassiana* (T2), *Metarhizium anisopliae* (T3), Espinosina (T4) e Água (T5).

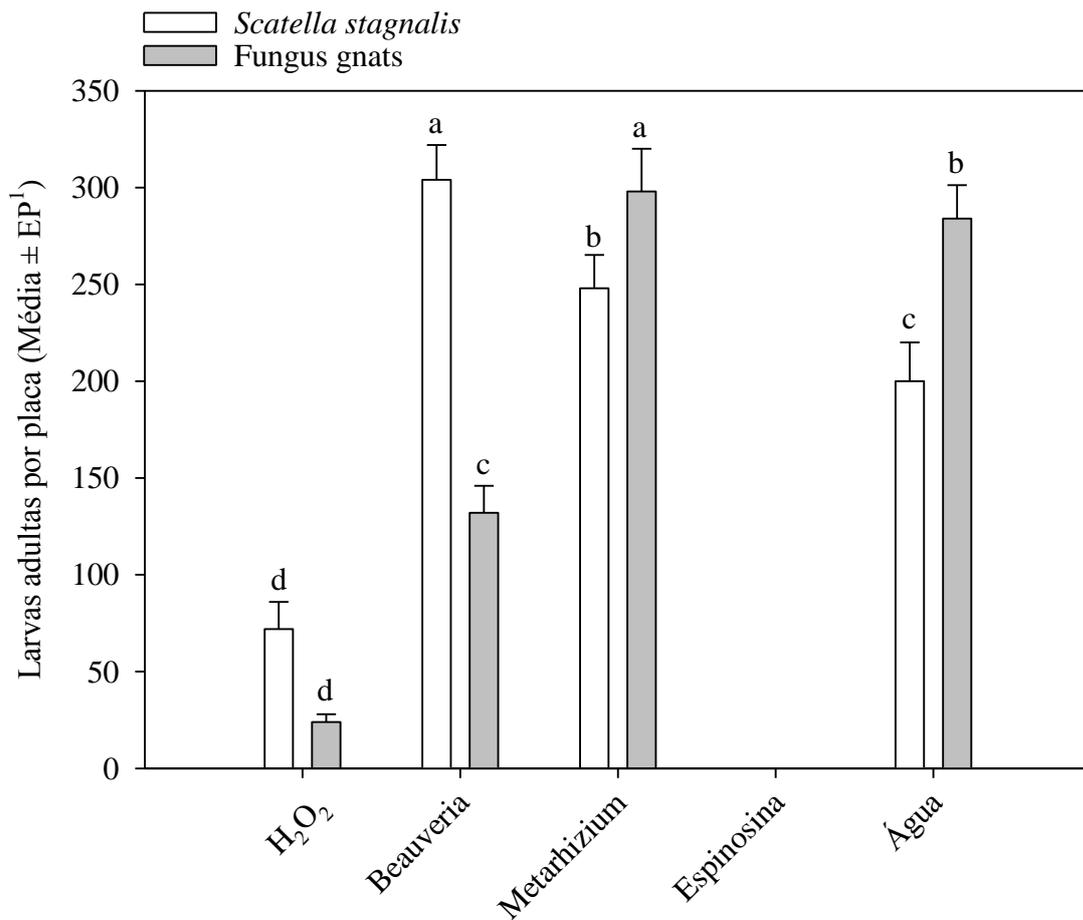


Figura 3. Total de larvas (Média ± EP¹) de *shore fly* e *fungus gnats* encontradas por placa de espuma pulverizadas com H₂O₂ (T1), *Beauveria bassiana* (T2), *Metarhizium anisopliae* (T3), Espinosina (T4) e Água (T5).¹Médias seguidas pela mesma letra, para cada espécie de mosca, não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste Tukey.

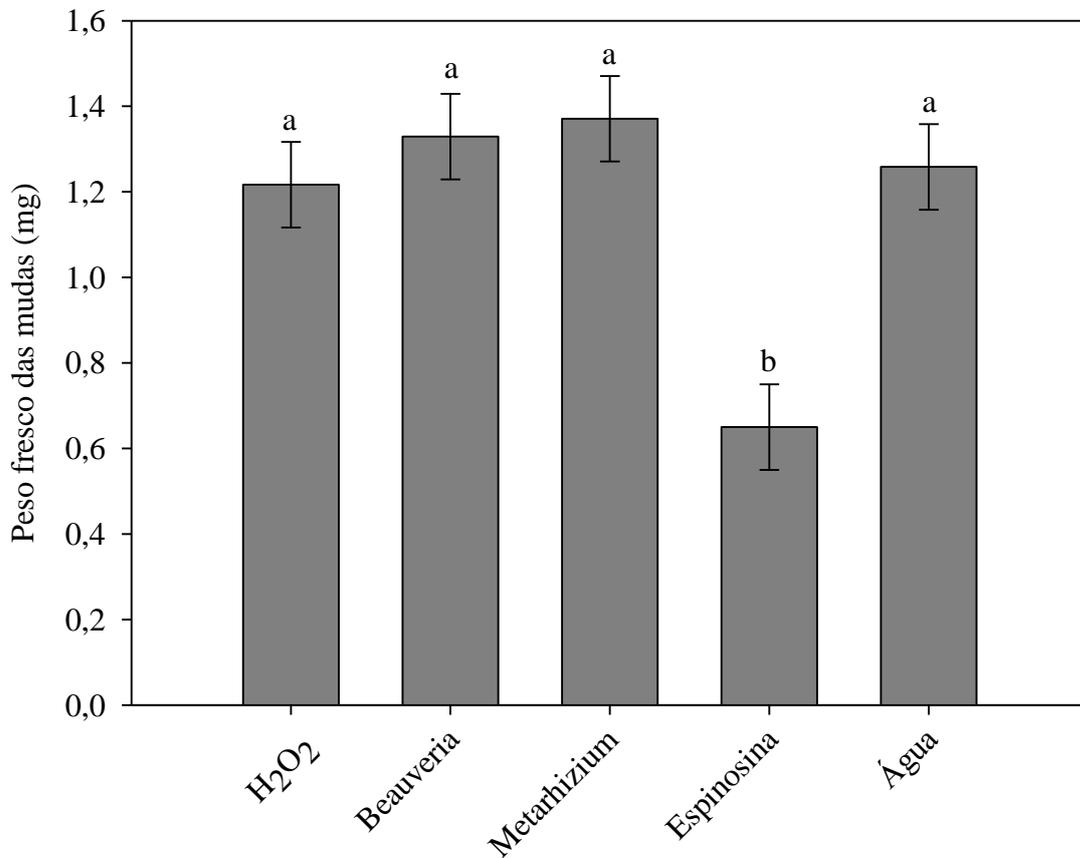


Figura 4. Peso fresco (Média \pm EP¹) de mudas de alface (cv. Brida) pulverizadas, antes da germinação, com H₂O₂ (T1), *Beauveria bassiana* (T2), *Metarhizium anisopliae* (T3), Espinosina (T4) e Água (T5).¹Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste Tukey.

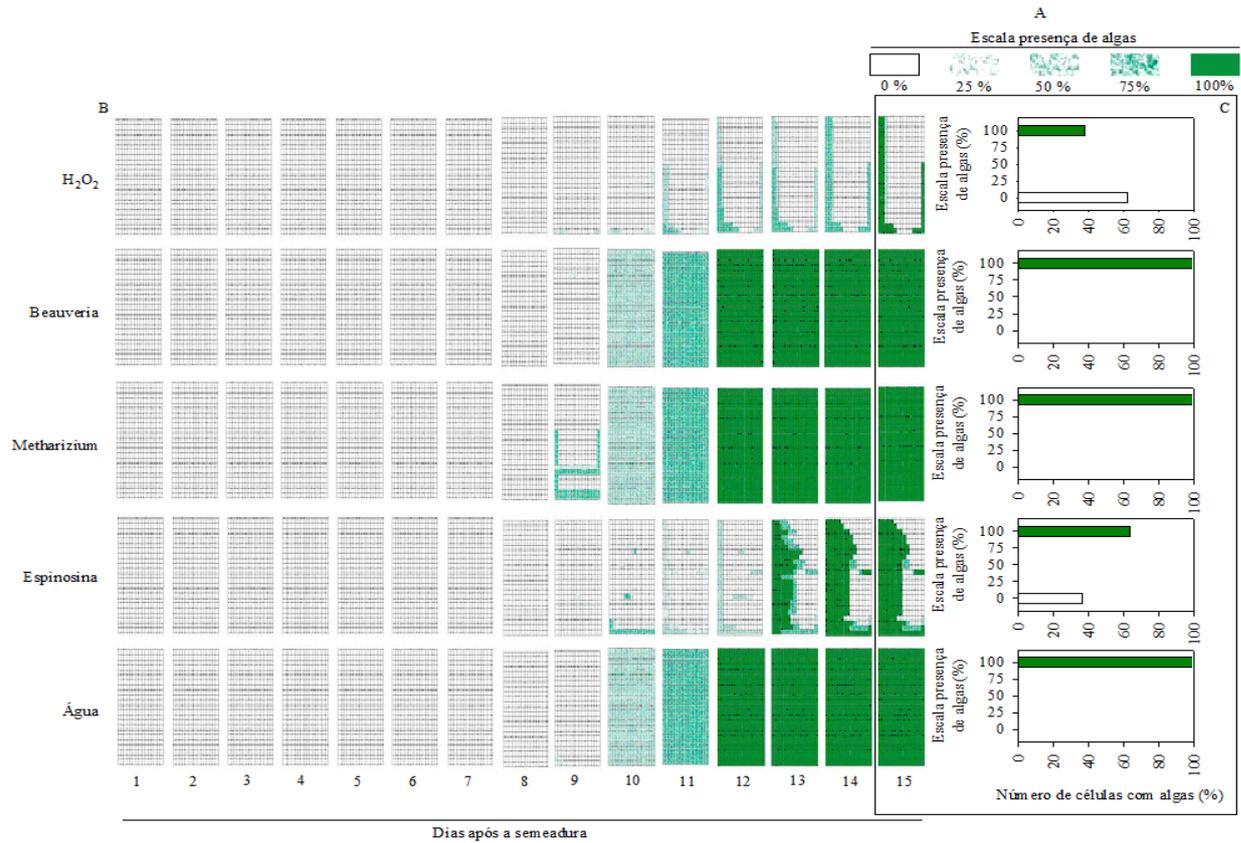


Figura 5. Escala adotada para quantificar a presença de algas visíveis na superfície das células, por placa (345 células) de espuma fenólica (Figura 5A). Evolução da infestação por algas nas placas de espuma fenólica para os tratamentos H₂O₂ (T1), *Beauveria bassiana* (T2), *Metarhizium anisopliae* (T3), Espinosina (T4) e Água (T5) em função do tempo (dias após a semeadura) (Figura 5B). Quantificação (%) do número de células infectadas com algas, por tratamento, apenas, para o último dia de avaliação (15º dia).