

## Desinfestação de Micro-Organismos Presentes em Substratos para Produção de Mudanças Florestais

Francis Farley Pereira Oliveira<sup>(1)</sup>; Janaína Fernandes Gonçalves<sup>(2)</sup>; Marcelo Luiz de Laia<sup>(3)</sup>; Mayara Ribeiro Lage<sup>(4)</sup>; Auwdreia Pereira Alvarenga<sup>(5)</sup>; Reynaldo Campos Santana<sup>(6)</sup>

<sup>(1)</sup> Estudante de Pós-Graduação em Ciência Florestal; Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri; Diamantina-MG; [francisfarley1@yahoo.com.br](mailto:francisfarley1@yahoo.com.br); <sup>(2)</sup> Pós-doutoranda em Ciência Florestal, [gonferja@yahoo.com.br](mailto:gonferja@yahoo.com.br);

<sup>(3)</sup> Professor, DEF- Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, [marcelolaia@gmail.com](mailto:marcelolaia@gmail.com); <sup>(4)</sup> Estudante do Curso de Engenharia Florestal; Departamento de Engenharia Florestal; Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, [mayaralage@hotmail.com](mailto:mayaralage@hotmail.com) <sup>(5)</sup> Técnica de Nível Superior, [auwdreia@gmail.com](mailto:auwdreia@gmail.com); DEF- Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, <sup>(6)</sup> Professor, DEF- Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Campus JK, Rodovia MGT 367, Km 583, nº 5000, Alto da Jacuba, Diamantina/MG, CEP 39100-000, [silviculturaufvjm@yahoo.com.br](mailto:silviculturaufvjm@yahoo.com.br).

**RESUMO:** Foram testadas diferentes temperaturas no processo de desinfestação de substrato utilizado para produção de mudas florestais. O experimento foi conduzido com dois diferentes tempos de aquecimento: 5 e 10 minutos. Realizaram-se 11 tratamentos e mais a testemunha ao qual não foi aplicado o aquecimento. As temperaturas variaram entre 70-160°C. A mensuração do crescimento microbiano foi avaliada através de análise espectrofotométrica da Densidade Óptica (D.O) da cultura. O tempo de 5 minutos testado nas diferentes temperaturas apresentou maior taxa de crescimento microbiano, demonstrando não ser eficaz no controle de micro-organismos. No entanto, o tratamento 11 (160°C) foi o mais eficiente, indicando uma elevada redução dos micro-organismos presentes nesses substratos, uma vez que reduziu a taxa dos mesmos nesses ambientes. Outras temperaturas deverão ser testadas a fim de reduzir o tempo de exposição dos mesmos, constituindo-se em uma alternativa que visa baratear a produção.

**Termo de Indexação:** Fitopatógenos, Espectrofotométrica, temperaturas.

### INTRODUÇÃO

Os substratos são utilizados como substituintes do solo para a produção de plantas. De maneira geral, tem a função de servir de sustentação das mesmas durante as fases de crescimento, fornecendo a capacidade adequada de umidade e nutrientes para desenvolvimento de raízes (GOMES e PAIVA, 2011).

No mundo todo, a indústria de substrato para plantas é um setor muito atrativo que se encontra na base da indústria Agroflorestal. Mas

por várias razões de ordem técnica a mortalidade de mudas durante o processo produtivo é de grande magnitude. Consequentemente o desperdício de substrato também é muito elevado.

Nos viveiros os tubetes com substratos ou somente os substratos daquelas mudas que morreram são amontoados em um canto até que se tenha uma quantidade de material para ser transportado para as áreas de descarte. Além das perdas econômicas, o substrato que permanece armazenado na condição citada, acarreta uma série de problemas. O primeiro deles é disseminação de doenças por ser fonte de inóculos nocivos, pois o mesmo é rico em nutrientes e pelo tipo de armazenamento temporário possui elevada umidade e temperatura, ocasionando perdas econômicas consideráveis (Alfenas et al., 2009). Um outro problema é o destino a ser dado a essa "sobra", ou seja, o que fazer com o substrato já utilizado.

O simples descarte pode gerar um problema ambiental, pois por ser rico em nutrientes tem elevado potencial para eutrofização de recursos hídricos, sendo que o ideal seria a reutilização do mesmo.

Atualmente, os viveiros não reciclam os substratos descartados para utilização em uma nova produção de mudas. Entretanto, a reutilização destes substratos com tal finalidade é possível, desde que sejam descontaminados e que suas características químicas e físicas sejam recuperadas. É sabido que as características físicas dos substratos descartados não sofrem alterações que inviabilizam a sua reciclagem. Assim, a esterilização dos substratos em um curto período de tempo é um fato almejado, especialmente para que as empresas certifiquem do controle total da qualidade de produção de



mudas. Assim, será possível sua reutilização na produção de novas mudas.

## OBJETIVO

Este trabalho teve por objetivo analisar a flora microbiana dos substratos nas diferentes fases do processo produtivo de mudas de eucalipto e avaliar a influência de diferentes temperaturas a fim de eliminar a presença de fitopatógenos nestes substratos.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Genética e Biotecnologia Florestal do Departamento de Engenharia Florestal da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM), no município de Diamantina-MG.

Os substratos compostos de 45% de vermiculita, 45% de fibra de coco e 10% de Mecplant, foram coletados em diferentes níveis de técnica no viveiro clonal da Empresa Plantar Reflorestamentos S.A., localizada no município de Curvelo – MG, mas somente nos tubetes cujas mudas não se desenvolveram. De cada uma das amostras foram retiradas 3 sub-amostras de aproximadamente 25 gramas e colocadas em um gerbox previamente esterilizado. Em seguida, iscas (Sanfuentes et al., 2002; Gonçalves et al., 2001; Laia et al., 1999) previamente desinfestadas (Mafia et al., 2008) foram adicionadas ao substrato no gerbox e mantido a 25°C por 48 h no escuro. Após esse período, a porcentagem de iscas colonizadas foram realizadas em laboratório sob microscópio estereoscópico óptico.

Avaliou-se o efeito de diferentes tempos e temperaturas em amostras de aproximadamente 1g dos substratos, cuja presença de patógenos foi detectada, essas amostras foram colocadas em estufa para aquecimento. Os tratamentos foram assim constituídos: T1-testemunha (sem aquecimento); T2-70; T3-80, T4-90; T5-100, T6-110; T7-120; T8-130; T9-140; T10-150; T11-160°C por 5 e 10 min. Após o resfriamento em temperatura ambiente por aproximadamente 2 min, em fluxo laminar os substratos foram transferidos para tubos Falcon contendo 15 mL meio de cultura LB e multiplicados por 12 h a 30°C sob agitação constante de 220 rpm. Após esse período, o crescimento microbiano foi avaliado através de análise espectrofotométrica da Densidade Óptica (OD 600nm) da cultura.

Foram instalados dois experimentos, para o tempo de 5 minutos com as temperaturas de 70-160°C e para o tempo de 10 com as mesmas temperaturas, para tal, utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado com 11 tratamentos e 3 repetições. Os dados foram submetidos a análise

de variância pelo teste F a 5% de probabilidade e o efeito das temperaturas sobre crescimento microbiano foi comparado com a testemunha (sem aquecimento) através do teste de Tukey a 5% de probabilidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em câmara úmida e em todas as fases dos substratos testados confirmou-se a presença do patógeno através do crescimento de fungos. Observou-se sintomas de tombamento das iscas semelhantes aos detectados por Sanfuentes et al., 2002.

Durante o tratamento com as diferentes temperaturas foi possível verificar que o calor seco submetido aos substratos reduziu drasticamente a presença de micro-organismos neste ambiente. O efeito maior foi evidenciado no tratamento T11, no qual utilizou-se a temperatura de 160°C por 10 min, observou-se que a elevada temperatura reduziu a taxa do número de células (totais ou viáveis) em comparação com a testemunha (sem aquecimento). O calor seco mata por efeito de oxidação, porém para assegurar a esterilização por completo um tempo maior e uma temperatura mais alta são necessários (Tortora, 2012).

Os dados estatísticos (**Tabelas 1 e 2**) evidenciaram que houveram diferenças significativas dos tratamentos ( $p$ -value < 0,05), assim pode-se inferir que as temperaturas testadas influenciaram de maneira desigual no crescimento dos micro-organismos (**figuras 1 e 2**). Com relação a essas diferenças, tem-se uma tendência de redução no número de células (totais ou viáveis) com o aumento da temperatura para ambos os tempos analisados, outro fato é que no maior tempo de esterilização do substrato pode-se verificar que para todas as temperaturas testadas tem-se uma maior redução do número de células, o que possibilita uma menor ocorrência de micro-organismos para esses tratamentos. O efeito mais pronunciado do aumento da temperatura permitiu inferir que a sensibilidade do fungo é profundamente alterada com as temperaturas crescentes (Martins et al., 2010).

## CONCLUSÃO

O aumento do tempo e da temperatura promoveram a redução de micro-organismos presentes nos substratos. No entanto, dever-se-ão avaliar o efeito de outras temperaturas a fim de obter a eliminação total dos patógenos presentes nestes substratos, em um menor espaço de tempo, e finalmente padronizar um método de esterilização que permita a sua reutilização.



## AGRADECIMENTOS

Este trabalho foi financiado pela Coordenação Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq). Ao DEF/UFVJM e a Plantar Reflorestamento.

## REFERÊNCIAS

ALFENAS, A. C.; ZAUZA, E. A. V.; MAFIA, R. G.; ASSIS, T. F. Clonagem e doenças do eucalipto. 2. ed. Viçosa, MG: Editora UFV, 2009. 500 p.

SANFUENTES, E. A. et al. Comparison of baits to quantify inoculum density of *Rhizoctonia* spp. in *Eucalyptus* clonal garden soils. *Australasian Plant Pathology*, v. 31, p. 177–183, 2002.

GOMES, J. M.; PAIVA, H. N. de. Viveiros Florestais – Propagação Sexuada. Viçosa: UFV, 2011. (Série Didática).

GONÇALVES, R. C. et al. Evaluation of bioassays to quantify *Cylindrocladium* inocula in soil. *Mycoscience*, v. 42, p. 261–264, 2001.

LAIA, M. L. de; ALFENAS, A. C.; HARRINGTON, T. C. Isolation, detection in soil, and inoculation of

*Ceratocystis fimbriata*, causal agent of wilting, die-back and canker in *Eucalyptus*. In: AUSTRALASIAN PLANT PATHOLOGY SOCIETY. 12th Biennial Conference. Conference Handbook. Canberra: Australasian Plant Pathology Society, p. 77–77, 1999.

MAFIA, R. G. et al. Reuse of untreated irrigation water as a vehicle of inoculum of pathogens in *Eucalyptus* clonal nursery. *Tropical Plant Pathology*, v. 33, n. 2, p. 96–102, 2008.

MARTINS, M.V.V.M.; SILVEIRA, S.F.; DIAS, V. M.; VIEIRA, H.D.; Efeito da temperatura e umidade do substrato na viabilidade de *Sclerotium rolfsii*. *Revista Acta Scientiarum Agronomy*, 32: 217-222, 2010.

TORTORA, G. J.; Funke, B. R.; CASE, C. L.; *Microbiologia* 10ª Edição. In: Controle do Crescimento Microbiano. Porto Alegre: Artmed, 2012.

Tabela 1: Análise de Variância para o Experimento no Tempo de 5 Minutos de Aquecimento.

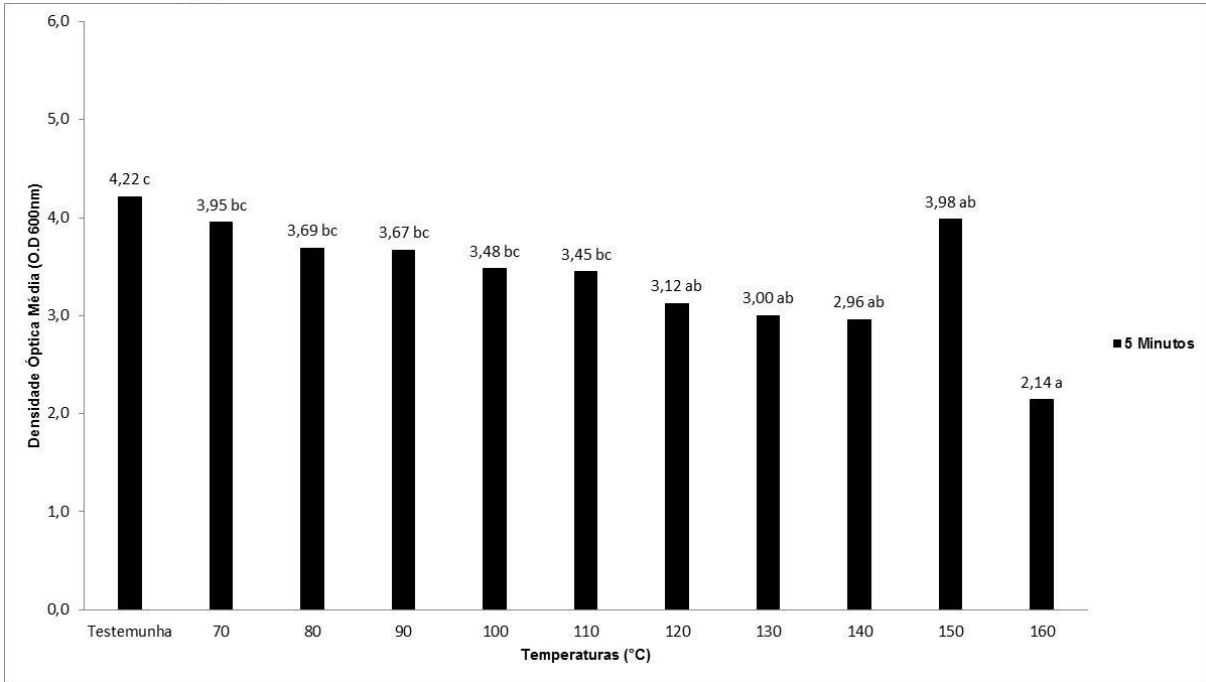
FV	GL	Quadrado Médio
Tratamento	10	1,04*
Resíduo	22	0,13

\*: Significativo 5% de significância

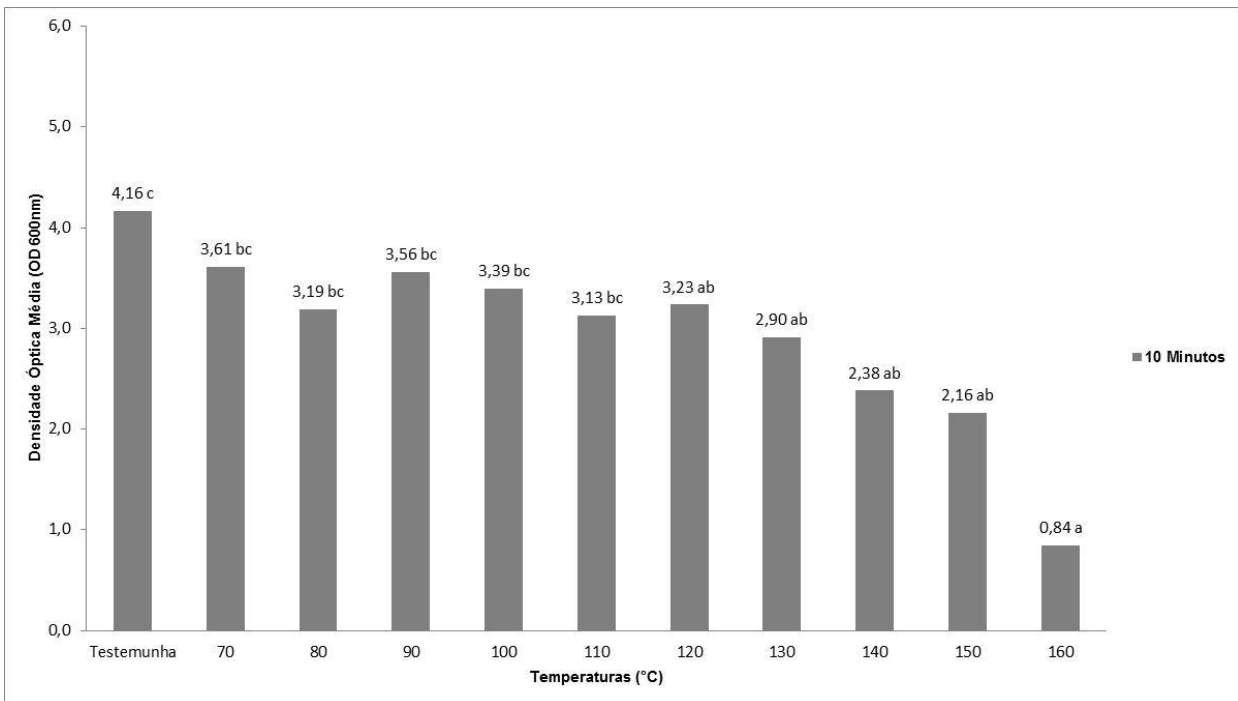
Tabela 2: Análise de Variância para o Experimento no Tempo de 10 Minutos de aquecimento.

FV	GL	Quadrado Médio
Tratamento	10	2,41*
Resíduo	22	0,32

\*: Significativo 5% de significância



**Figura 1** – Número de células (totais ou viáveis) de acordo com as diferentes temperaturas avaliadas para o tempo de 5 minutos de aquecimento. Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste Tukey a 5% de significância.



**Figura 2** – Número de células (totais ou viáveis) de acordo com as diferentes temperaturas avaliadas para o tempo de 10 minutos de aquecimento. Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste Tukey a 5% de significância.