



**Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária**  
**Centro Nacional de Pesquisa de Hortaliças**  
Ministério da Agricultura e do Abastecimento  
BR 060 - Km 09 - Brasília/Anápolis - Caixa Postal 218  
CEP 70359-970 - Brasília-DF - Fone: (061) 385-9000  
E-mail: cnph@cnph.embrapa.br

# **Pesquisa em Andamento**

## **Embrapa Hortaliças**

ISSN 1415-0352

Nº 15, dezembro 1998, p.1-8

### **DESENVOLVIMENTO DE UM SISTEMA PARA DESINFESTAÇÃO DE SUBSTRATOS PARA PRODUÇÃO DE MUDAS, UTILIZANDO VAPOR DE ÁGUA**

**JOÃO BOSCO C. SILVA<sup>1</sup>**  
**LOENI L. FALCÃO<sup>2</sup>**  
**IVANI T. OLIVEIRA-NAPOLEÃO<sup>3</sup>**

**Termos para indexação:** Desinfestação de substrato; produção de mudas; termoterapia.  
**Index terms:** Disinfestation of substrate; seedling production; thermotherapy.

#### **RESUMO**

Para o tratamento sanitário de substratos utilizados no cultivo de plantas tem-se utilizado freqüentemente o gás brometo de metila. Entretanto, o uso deste gás deverá ser paulatinamente restringido, prevendo-se a sua abolição até o ano 2010. Como opção, desenvolveu-se um equipamento simples e eficaz, que utiliza o vapor de água à baixa pressão, e portanto sem risco para o operador. Trata-se de um conjunto formado por uma caldeira industrial, com capacidade para evaporar 30 L/h de água, que fornece o vapor para aquecer o substrato contido em uma caixa metálica cilíndrica com capacidade de 2000 L. O vapor é aplicado no fundo da caixa que contém uma camada de brita coberta com uma tela metálica de malha de 2 mm, que favorece a distribuição uniforme do vapor por toda a massa de substrato. O tempo de aquecimento é de aproximadamente 3 h e o calor armazenado durante este período mantém a massa de substrato aquecida a temperaturas pasteurizantes, por até 4 h após a aplicação do vapor. Para testar a eficácia do sistema avaliou-se a sobrevivência dos patógenos *Ralstonia solanacearum*, *Fusarium oxysporum* e *Sclerotinia sclerotiorum*, distribuídos em três posições e duas profundidades da massa de substrato. Aplicou-se vapor por uma hora, não considerando o período de aquecimento, e coletou-se as amostras uma, duas, três e quatro horas após o início da aplicação de vapor. O tratamento por uma hora, em adição ao período de aquecimento, resultou na eliminação de todos os patógenos testados.

<sup>1</sup> Eng. Agrônomo, pesquisador da Embrapa Hortaliças;

<sup>2</sup> Estagiária, estudante da Universidade Federal de Santa Maria - RS;

<sup>3</sup> Eng. Agrônoma, pós-graduanda do Dep. de Fitopatologia da Universidade de Brasília.

**RESULTADOS PROVISÓRIOS, SUJEITOS A CONFIRMAÇÃO**

**INTRODUÇÃO**

O tratamento sanitário de substratos é uma operação importante no processo de produção de mudas e no cultivo de plantas em vasos ou outros contentores. O processo visa eliminar organismos causadores de doenças que podem provocar a morte das mudas e/ou servir como fonte de inóculo para disseminação de patógenos no transplante. Tradicionalmente no Brasil, tem-se utilizado o gás brometo de metila como agente destruidor desses organismos. Todavia, este gás é também um dos agentes destruidores da camada de ozônio. Por isso, o seu uso deverá ser reduzido em 50% até o ano 2005 e suspenso até 2010, forçando-se a busca de opções para o tratamento de solo e substratos (Müller, 1998).

Outros processos tais como compostagem e solarização têm como principal vantagem a economia de energia. Entretanto, tem como desvantagens o tempo relativamente longo para sua execução, a desuniformidade do tratamento e a pouca garantia da eficácia dos processos. Há também equipamentos que utilizam microondas, radiação gama, ultra-violeta, ozônio e ultra-filtração, desenvolvidos para desinfestação de solo e/ou solução nutritiva .

Uma alternativa para a substituição do gás brometo de metila é a aplicação de vapor de água ao substrato, uma vez que a combinação de alta umidade e temperatura favorece a eliminação de microorganismos e sementes de plantas invasoras.

A aplicação de vapor de água para desinfestação de solos e substratos é uma opção ambientalmente correta e tem sido utilizada em vários países. É também utilizado em praticamente todas as indústrias de processamento de alimentos e também nos processos laboratoriais, existindo inúmeros equipamentos para pasteurização ou esterilização tanto de matérias primas quanto de produtos processados.

Os equipamentos mais conhecidos que utilizam vapor de água são as autoclaves e as painéis de pressão. Embora sejam utilizados para esterilização de substrato para o cultivo de plantas, estes equipamentos não possuem mecanismos que forcem a circulação do vapor através das camadas internas da massa de substrato, ocorrendo um gradiente de temperatura entre a superfície que fica em contato direto com o vapor e as camadas internas da massa de substrato, exigindo-se um longo tempo de tratamento para que ocorra a uniformidade de temperatura. Esse inconveniente ocorre porque a massa úmida de substrato forma uma barreira à circulação do vapor e também porque o substrato possui alta proporção de material orgânico, que age como isolante térmico, dificultando a difusão do calor para as camadas internas. Além dessas desvantagens, nas autoclaves o vapor é aplicado a alta pressão, apresentando riscos de acidente por falhas no sistema de segurança ou por manuseio inadequado do equipamento.

Alguns autores consideram que o tratamento térmico a 82° C por 30 min esteriliza o solo, pois os principais organismos fitopatogênicos são inativados pelo calor à temperatura próximo de 70° C, por um período aproximado de 30 minutos (Jarvis, 1993). Exemplos de temperatura e tempo para inativação de alguns patógenos são apresentados na Tabela 1. Entretanto, alguns patógenos como vírus do mosaico do fumo e vírus do mosaico do pepino, são dificilmente inativados em temperaturas abaixo de 100° C. Algumas espécies de *Pythium* e alguns isolados de *Fusarium oxysporum* são termotolerantes (Bollen, 1969).

---

P.A. Nº 15, dezembro 1998, p.3

A completa esterilização do substrato cria um "vácuo biológico" que pode ser preenchido tanto por organismos saprófitas quanto por patógenos que podem colonizar rapidamente o substrato, pela ausência de organismos supressores com potencial controle biológico. Pode ocorrer casos em que a severidade da doença é maior em solos tratados (Rowe *et al*, 1977). Outra ocorrência importante é a eliminação de bactérias que transformam nitrogênio amoniacal em nitratos. Na ausência desse processo pode ocorrer a formação de nitritos que juntamente com quantidades elevadas de amônia, podem atingir teores fitotóxicos (Sonneveld, 1979).

O tratamento com vapor a temperaturas superiores a 80° C causa a liberação de íons de manganês fixados no solo, podendo atingir níveis tóxicos quando os teores forem superiores a 12 mg/kg de Mn solúvel no solo. O excesso de Mn contribui também para ocorrência de deficiência de ferro (Jarvis, 1993). A ocorrência tanto de níveis tóxicos de Mn quanto da deficiência de Fe depende da composição do substrato.

O objetivo deste trabalho é desenvolver e avaliar a eficácia de um sistema simples e seguro para tratamento térmico de substratos para cultivo de plantas, utilizando-se vapor de água aplicado à baixa pressão.

### **DESCRIÇÃO DO PROTÓTIPO**

O vapor de água produzido por uma caldeira industrial dotada de sistemas de segurança é aplicado no centro do fundo de uma caixa cilíndrica com capacidade de 2000 L, contendo uma camada de 10 cm de brita grossa, coberta por uma tela de arame galvanizado com malha de aproximadamente 2 mm, formando um fundo falso, por onde flui o vapor, que se distribui uniformemente através do substrato colocado dentro da caixa. Para economia de energia, a caixa é revestida externamente por isolante térmico e tampada com filme plástico que suporte a temperatura de pelo menos 100° C. Outros materiais tais como madeira, fibra de vidro ou chapa metálica também podem ser utilizados. A camada de brita e a tela de arame podem ser substituídas por uma chapa metálica perfurada, suportada por uma estrutura em madeira ou metal.

O protótipo foi confeccionado com chapas metálicas de 4 mm de espessura, formando uma caixa de 1,5 m de diâmetro e 1,2 m de altura, com uma janela lateral com 0,9 m de largura, que é fechada com a sobreposição de seis tábuas de 20 cm de largura e 4 cm de espessura. As tábuas se firmam em trilhos fixados nas bordas laterais da janela. Através da janela se faz o carregamento e o descarregamento do substrato. Para evitar que parte do vapor se perca através das frestas entre as tábuas, um filme plástico é colocado entre a massa de substrato e as tábuas, à medida que se faz o enchimento da caixa. O conjunto é coberto por um plástico, para evitar parcialmente a liberação de vapor na superfície do material.

A caldeira utilizada tem capacidade para evaporação de 30 kg/h de água e consome cerca de 3 kg/h de gás GLP. Embora o equipamento forneça vapor à pressão de até 7 kgf/cm<sup>2</sup>, a pressão de vapor durante a aplicação é de 1,5 kgf/cm<sup>2</sup>, que é a força necessária para vencer a resistência da massa de substrato à passagem do vapor. É possível utilizar caldeiras com outras características, sendo que quanto maior a capacidade de produção de vapor, menor o tempo de

---

aquecimento da massa de substrato e portanto maior capacidade de tratamento, permitindo-se instalar uma bateria de caixas para o tratamento.

### **AVALIAÇÃO DO PROTÓTIPO**

Para avaliar a evolução da temperatura durante o aquecimento e até quatro horas após a aplicação do vapor, fez-se amostragem nas posições centro, próximo à janela e na lateral da caixa, às profundidades de 10 e 20 cm da superfície. Aplicou-se vapor até ocorrer a sua liberação em toda a superfície do substrato, o que demorou cerca de 3 h, e considerou-se este momento como início do tratamento térmico. Prosseguiu-se com a aplicação do vapor por mais uma hora e mediu-se a temperatura de hora em hora.

Utilizou-se substrato composto basicamente por três partes de terra (retirada de uma camada de até 20 cm de um solo franco-argiloso), uma parte de esterco de bovinos e duas partes de casca de arroz carbonizada.

Para avaliar a eficácia do sistema quanto à capacidade de desinfestação, foram realizados quatro testes, enterrando-se amostras de material contaminado, nas posições centro, próximo à janela e na lateral da caixa, às profundidades de 10 e 20 cm da superfície da massa de substrato. Aplicou-se vapor por uma hora (não considerando o período de aquecimento), e os contentores com as amostras foram retirados uma, duas, três e quatro horas após o início da aplicação do vapor. Cada patógeno foi testado em partida diferente. Foram utilizados os seguintes patógenos: *Ralstonia solanacearum*, bactéria causadora da murcha bacteriana, escleródios do fungo *Sclerotinia sclerotiorum* e esporos do fungo *Fusarium oxysporum*, adotando-se os seguintes procedimentos:

1 – Tubos de ensaio contendo 10 ml da suspensão de  $10^7$  unidades formadoras de colônias (ufc) por mililitro, utilizando-se o isolado CNPH 13 de *R. solanacearum* foram colocados no interior da massa do substrato durante o processo de desinfestação. Após o tratamento térmico, duas alíquotas da suspensão de cada tubo foram riscadas em placa de Petri com meio de Kelman (Kelman, 1954), sem tetracélio. As placas foram colocadas em incubadora à temperatura de 26° C, por 48 h, para posterior observação das colônias.

2 – Vinte litros de substrato não tratado foram infestados com 1 L de suspensão contendo  $10^7$  ufc/ml de *R. solanacearum* e outra porção foi contaminada com 1 L de suspensão contendo  $10^7$  ufc/ml de esporos de *F. oxysporum*. Ambas porções foram incubadas por sete dias à sombra, mantendo-se a umidade. De cada substrato artificialmente infestado tomaram-se 24 amostras de 500 g, que foram colocadas em sacos de tecido de algodão de 15 x 25 cm e submetidas ao tratamento térmico, enterrando-se quatro saquinhos em cada posição na massa de substrato. A cada hora de termoterapia retirou-se um saquinho de cada posição.

Após a termoterapia uma amostra de 10 g do substrato contido em cada saco foi colocada em 100 ml de água destilada, foi vigorosamente agitada e, da suspensão obtida fizeram-se diluições nas proporções de 1:100, 1:500, 1:1.000 e 1:10.000. De cada diluição retirou-se 100 µl da suspensão que foi colocado em meio de Kelman, sem tetracélio (Kelman, 1954), para os testes com *R. solanacearum*, e meio BDA mais antibiótico clorafenicol (100 mg/L) para os testes

---

P.A. Nº 15, dezembro 1998, p.5

com *F. oxysporum*. Todas as placas foram colocadas em incubadoras a 26° C, durante 48 h para *R. solanacearum* e por cinco dias para *F. oxysporum* para observação e contagem de colônias.

3 – As frações restantes dos substratos contaminados e submetidos à termoterapia foram transferidas para vasos com capacidade de 0,5 L. Dez vasos receberam o substrato contaminado e não submetido à termoterapia (testemunha). Cada vaso que continha substrato anteriormente infestado com *R. solanacearum* recebeu duas mudas de tomate do genótipo L 398<sup>7</sup>, da coleção de germoplasma da Embrapa Hortaliças, e os vasos que haviam sido infestados com *F. oxysporum* receberam quatro sementes de tomate da cultivar Ponderosa, por serem estes genótipos padrões de suscetibilidade para os patógenos referidos.

4 – Escleródios de *S. sclerotiorum* acondicionados em saquinhos de tecido (10 unidades por saquinho), foram submetidos ao tratamento térmico, tiveram a superfície desinfestada por imersão em álcool a 70% por um minuto, em hipoclorito de sódio a 0,2% por dois minutos, lavados em água destilada e colocados em placa de Petri, contendo meio neon, BDA com clorafenicol e azul-de-bromofenol (Peres *et al.*, 1996). Fez-se a contagem de escleródios que germinaram após a incubação a 20° C, por sete dias.

## **RESULTADOS**

O protótipo desenvolvido tem capacidade para tratar partidas de 2.000 L de substrato, gastando em média, três horas de vapor para aquecer todo o volume. Este é o tempo entre a abertura do registro de pressão da caldeira e o início da liberação visualmente uniforme do vapor na superfície do substrato.

O calor armazenado no substrato durante o tratamento com vapor manteve a massa do mesmo com temperatura elevada, por um tempo prolongado. Durante a aplicação do vapor (não considerando o período de aquecimento), a temperatura foi de 100° C em todos os pontos de amostragem e se reduziu lentamente, com pequena diferença entre as três posições (Figuras 1 e 2). Nas medições feitas de hora em hora até quatro horas após o início da aplicação do vapor, verificou-se que a temperatura da camada de substrato a 10 cm de profundidade, variou entre 83 e 100° C enquanto que, a 20 cm de profundidade, manteve valores superiores a 90° C. A temperatura do substrato observada durante o tratamento, inclusive durante a fase de resfriamento pode ser considerada como desinfestante, pois superou a temperatura de inativação dos principais patógenos (Tabela 1).

Dos tubos de ensaio contendo a suspensão de bactérias não se recuperou o patógeno, inclusive naqueles tubos submetidos a apenas uma hora de tratamento térmico.

Nenhum escleródio submetido à termoterapia germinou, sendo que os escleródios testemunha apresentaram 88% de germinação.

Observou-se o desenvolvimento de diversas colônias nas placas, nas diversas diluições do filtrado do substrato, sem a presença de colônias típicas dos patógenos inicialmente adicionados. Nas placas testemunhas, observaram-se colônias típicas para todas as diluições testadas. Fez-se o

---

P.A. Nº 15, dezembro 1998, p.6

isolamento de algumas colônias típicas da bactéria *R. solanacearum* contidas nas placas testemunha, obtendo-se confirmação positiva.

O crescimento de inúmeras colônias de microrganismos nas placas que continham o filtrado obtido de substrato tratado indica que o tratamento não é esterilizante, mas foi suficiente para a eliminação dos patógenos testados. Assim sendo, não ocorreu o "vácuo biológico" que acontece quando se faz a completa esterilização.

Nas plantas de tomate cultivadas em substrato tratado não se observou ocorrência de "tombamento", sintomas de murcha bacteriana ou de murcha-de-fusario, enquanto que nos dez vasos contendo substrato não tratado, em apenas um não houve desenvolvimento de sintomas de murcha e nos vasos contaminados com *Fusarium*, houve falhas na germinação e ocorrência de "tombamento".

Considerando: 1- que houve eficácia do tratamento em todas as posições para todos os tempos avaliados; 2 - que durante quatro horas após a aplicação do vapor a temperatura do substrato se manteve suficientemente elevada para eliminar os principais patógenos; 3 - que o consumo de gás é relativamente pequeno (3 kg/h), sugere-se que a aplicação de vapor pode ser feita por 30 minutos, para que ocorra total uniformidade na distribuição do calor na massa de substrato, podendo-se esvaziar a caixa após uma hora da suspensão da aplicação do vapor. Essa opção será testada na próxima fase da pesquisa, quando será incluído o patógeno *Rhizoctonia solani*.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BOLLEN, G.J. The selective effect of heat treatment on the microflora of a greenhouse soil. *Netherlands Journal of Plant Pathology*, v.75, n. 1 / 2, p.157-163, 1969. *Review of Applied Mycology*, v.48, n.6, 1969. Abstract 1542.
- JARVIS, W.R., *Managing diseases in greenhouse crops*. St. Paul: The American Phytopathological Society, 1993. 288 p.
- KELMAN, A. The relationship of pathogenicity in *Pseudomonas solanacearum* to colony appearance on a tetrazolium medium. *Phytopathology*, v. 44, p. 693-695, 1954.
- MÜLLER, J. Alternativas ao uso de brometo de metila. *Circuito Agrícola*, v. 6, n. 54, p. 20, 1998.
- PERES, A.P.; NASSER, L.C.; MACHADO, J.C. Utilização de meio seletivo para detecção de *Sclerotinia sclerotiorum* em sementes de feijão e soja. *Fitopatologia Brasileira*, v. 21, p. 364, 1996. Resumo
- ROWE, R.C. ; FARLEY, J.D.; COPLIN, D.L. Airborn spore dispersal and recolonization of steamed soil by *Fusarium oxysporum* in tomato greenhouse. *Phytopathology*, v. 67, p.1513-1517, 1977.
- SONNEVELD, L.E. Changes in chemical properties of soil caused by steam sterilization. In: MULDER, D., ed. *Soil disinfection*, Amsterdam: Elsevier, 1979. p. 39-50.
-

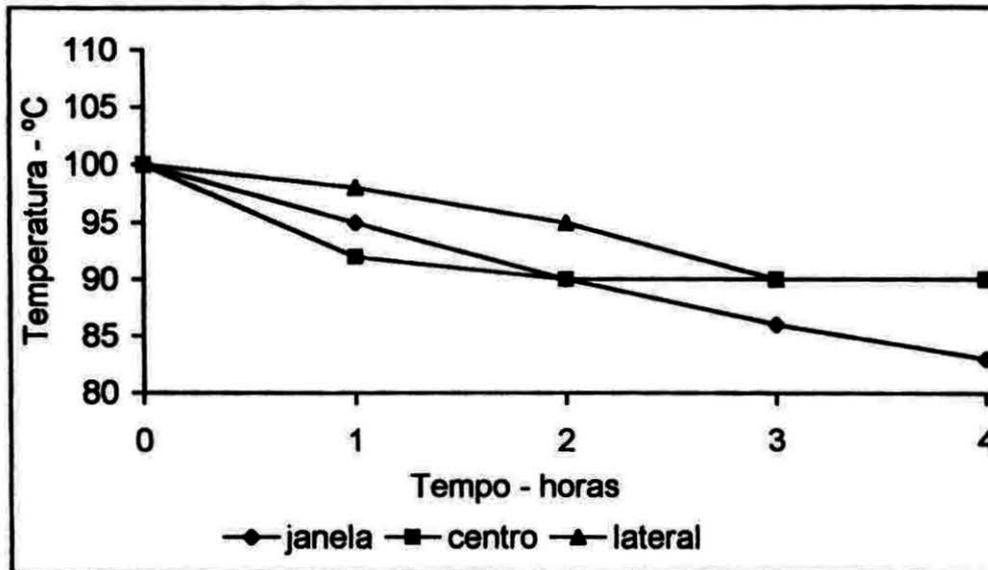


Figura 1 – Temperatura da massa de substrato a 10 cm da superfície, após a aplicação o vapor de água por uma hora. Brasília, Embrapa Hortaliças, 1998.

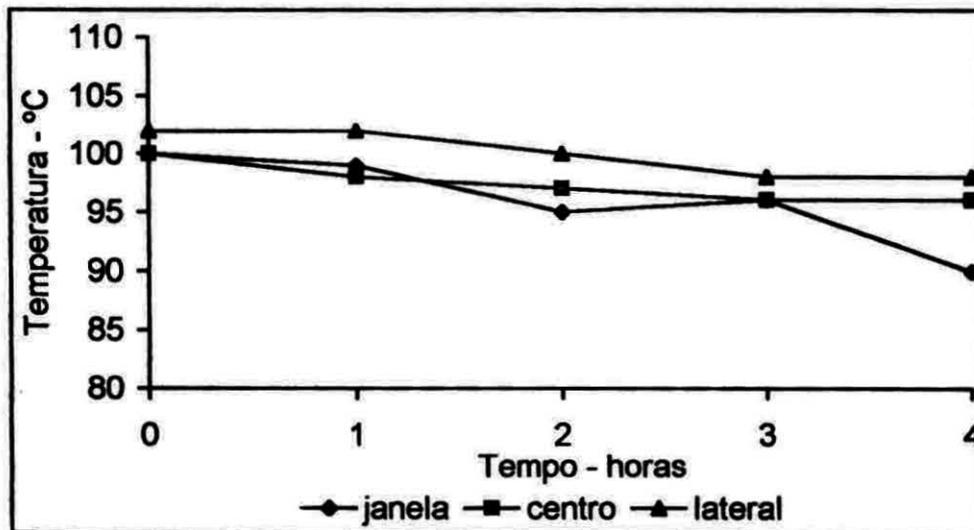


Figura 2 – Temperatura da massa de substrato a 20 cm da superfície, após a aplicação do vapor de água por uma hora. Brasília, Embrapa Hortaliças, 1998.

---

Tabela 1 – Temperatura e tempo para inativação de alguns patógenos.

<b>Patógeno</b>	<b>Temperatura (°C)</b>	<b>Tempo de exposição (min)</b>
<i>Botrytis cinera</i>	55	15
<i>Cylindrocarpon destructans</i>	50	30
<i>Didymella lycopersici</i>	50	30
<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. dianthi	60	30
<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. gladioli	57	30
<i>Phialophora cinerescens</i>	50	30
<i>Phytophthora cryptogea</i>	50	30
<i>Pythium</i> sp.	53	30
<i>Pythium irregulare</i>	53	30
<i>Pythium ultimum</i>	46	20-40
<i>Rhizoctonia</i> sp.	52	30
<i>Rhizoctonia solani</i>	53	30
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	50	5
<i>Sclerotium rolfsii</i>	50	30
<i>Thielaviopsis basicola</i>	48	30
<i>Verticillium albo-atrum</i>	53	30
<i>Verticillium dahliae</i>	58	30
<i>Meloidogyne incognita</i>	48	10
<i>Heterodera marioni</i>	48	15
<i>Pratylenchus penetrans</i>	49	10

Fonte: Jarvis (1993)

Tiragem: 70 exemplares

*Produção editorial:*

ACE - Área de Comunicação Empresarial

*Impressão:*

SSA - Setor de Serviços Auxiliares