

## **Produção de Mudas**

---

*Sérgio D. dos Anjos e Silva*

*Cândida R. S. Montero*

*Francis Radael Tatto*

*Elis D. Timm Simon*

*William R. Antunes*

### **Produção de mudas a partir de minitoletes**

Alternativamente ao sistema de plantio convencional, em que a cana é plantada por meio de toletes contendo duas a três gemas no sulco de plantio, o sistema de produção de mudas via minitoletes consiste na produção de mudas a partir de uma única gema.

Os principais passos para obter mudas via minitoletes são:

1. Coleta dos colmos
2. Preparo dos minitoletes
3. Plantio
4. Brotação e crescimento
5. Aclimação
6. Transplante

Algumas orientações importantes relacionadas a cada uma dessas etapas serão descritas abaixo.

Na coleta dos colmos para produção das mudas deve-se levar em conta a maturação da cana-de-açúcar, ou seja, a cana deve estar madura com pelo menos 10 meses de cultivo. Após a coleta é necessário realizar a limpeza dos colmos removendo as folhas dos mesmos (Figura 1a). O corte dos colmos pode ser realizado com uma guilhotina (Figura 1b), tesoura de poda ou ainda com um facão. Os minitoletes devem ter aproximadamente 3 cm (Figura 1c), medida importante tendo em vista o diâmetro do tubete ou recipiente que será utilizado na produção de mudas. Durante o corte e a limpeza dos colmos é importante evitar danos às gemas e remover parte do limbo que cobre a gema para facilitar sua emergência.

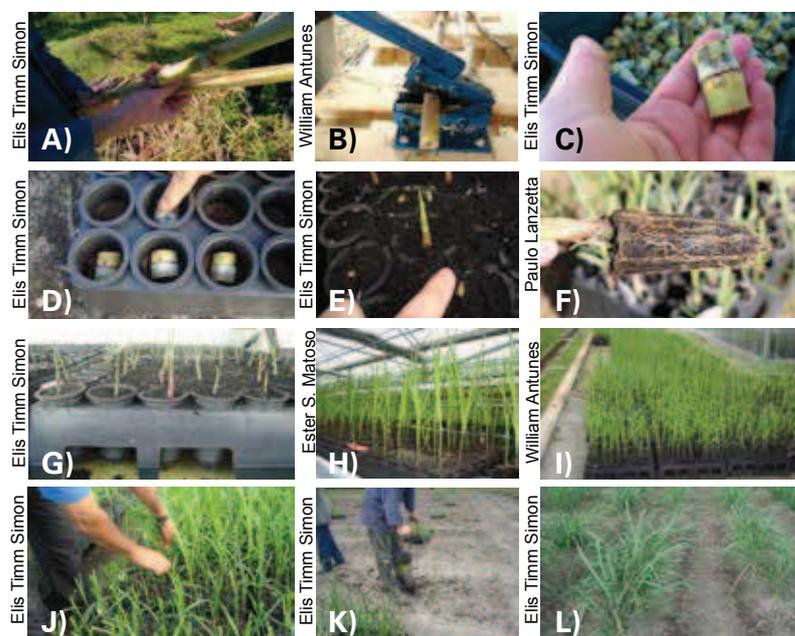
Na etapa de plantio dos minitoletes faz-se uma seleção, descartando aqueles que contêm gemas mortas ou danificadas. Para o plantio são necessários: substrato e recipientes para o cultivo. A Embrapa adota tubetes de 13 cm de altura e 5 cm de diâmetro (Figura 1d e 1g). No entanto, o produtor pode adaptar essa metodologia utilizando copinhos plásticos desde que faça orifícios na base dos mesmos.

Para o plantio, deve-se preencher o tubete ou copinho com substrato até um pouco mais da metade, deixando um espaço vazio de aproximadamente dois dedos ou 3,5 cm sem substrato, espaço destinado a colocar os minitoletes e posteriormente tapar com substrato. Os minitoletes devem ser posicionados no tubete com a gema exposta virada para cima (Figuras 1 d). Mais informações sobre os substratos estão disponíveis na próxima seção.

Após cobrir os minitoletes, é importante manter a umidade do substrato, que pode ser obtida através do sistema de floating (Figura 8 g). A brotação inicia entre 7 e 10 dias após o plantio, dependendo da variedade e maturidade da cana (Figura 1 e). Em condições

controladas, 25° a 30°C e em sistema floating, as mudas estarão prontas em 40 a 50 dias (Figuras 1h e i).

Antes do transplante as mudas precisam ser aclimatadas por pelo menos 10 dias (Figuras 1 i). Próximo ao transplante deve-se proceder ao corte das folhas com cuidado para não cortar o meristema apical (Figura 1j).



**Figura 1.** Limpeza dos colmos de cana (a), corte dos minitoletes com guilhotina (b), minitoletes com 3 cm (c), posicionamento do minitolete no tubete (d), brotação (e), enraizamento (f), sistema floating (g), mudas com 30 dias em ambiente controlado (h), aclimação (i), corte antes do transplante (j) e plantio (k e l).

O sistema de mudas via minitoletes apresenta algumas vantagens em relação ao plantio convencional. A principal vantagem refere-se ao menor volume de material de cana necessário para multiplicação,

o que implica em sobra de cana para o uso final do agricultor, bem como possibilidade de aumentar suas áreas quando há pouco material de cana disponível.

Comparativamente, o sistema convencional de plantio necessita de 12 a 18 gemas por metro linear, enquanto que para o sistema de mudas via minitoletes a recomendação de plantio é de 2 a 3 mudas por metro linear, aproximadamente 9 vezes menos material utilizado para obtenção de uma área similar.

Além de economizar material e carregar menos peso para o campo no momento do plantio, o sistema de mudas via minitoletes também confere maior uniformidade ao canavial com menos falhas nas linhas de plantio, e permite melhor controle de plantas daninhas nas fases iniciais.

## **Substratos**

O substrato tem importante papel na propagação de espécies, seja por via vegetativa ou de sementes, sendo responsável por receber o propágulo e por seu desenvolvimento. As características físicas e químicas, custo e disponibilidade dos substratos devem ser associados à espécie plantada, a fim de garantir melhores resultados econômicos e produtivos. É de extrema importância que o substrato esteja disponível e em quantidade suficiente para o produtor.

Existem substratos comerciais de boa qualidade empregados nessa atividade; porém, com preço elevado. A utilização de resíduos na composição de substratos é uma alternativa para diminuir o valor e reaproveitar os resíduos disponíveis. Pois, além dos benefícios no suporte para o desenvolvimento das plantas, o impacto ambiental causado pela má disposição desses resíduos é diminuído. A casca de arroz carbonizada é facilmente encontrada na região Sul, haja vista a abundante produção da cultura. Esse material se destaca devido

ao baixo custo, ausência de contaminantes, fácil manuseio e grande capacidade de drenagem, que quando associada a outros materiais garante boas características ao substrato.

A realização da compostagem também é uma alternativa para uso como substrato, pois a partir do aproveitamento de resíduos, os agricultores estarão agregando renda. Os materiais orgânicos têm origem em resíduos vegetais, sujeitos à decomposição e, por isso, são mais ou menos quimicamente ativos, podendo adsorver nutrientes do meio ou liberá-los a eles. A associação dos compostos com torta de tungue, um resíduo agroenergético que também gera impactos ambientais, melhora a liberação de nutrientes para as plantas.

A formação de mudas de cana-de-açúcar de boa qualidade envolve os processos de brotação de gemas, iniciação radicular e formação do sistema radicular e parte aérea, que estão diretamente relacionados com características que definem o nível de eficiência dos substratos, tais como: aeração, drenagem, retenção de água e disponibilidade balanceada de nutrientes. A combinação de casca de arroz carbonizada com compostos orgânicos proporciona macroporosidade, que está correlacionada com aeração e drenagem. Já, a mistura desses com torta de tungue disponibiliza o teor ideal de nutrientes para o crescimento e desenvolvimento inicial de mudas. O mais importante na análise de um substrato não é saber do que ele é composto, mas sim as características que ele apresenta.

Um fator que afere na boa brotação da cana-de-açúcar por minitoletes é a escolha de gemas viáveis e um substrato com boa capacidade de retenção, que mantenha o tolete hidratado; este segundo fator se dá através de matérias que confirmam esse potencial, como a cinza de casca de arroz, para a qual cada 1 g absorve 2,3 g de água, e a vermiculita, que é de fácil aquisição com baixo custo e para a qual cada 1 g é capaz de absorver 2,4 g de água. No entanto, esses componentes devem ser administrados como misturas a demais

materiais para haver agregação do substrato nas raízes e as mesmas serem transferidas a campo com um bom enovelamento.

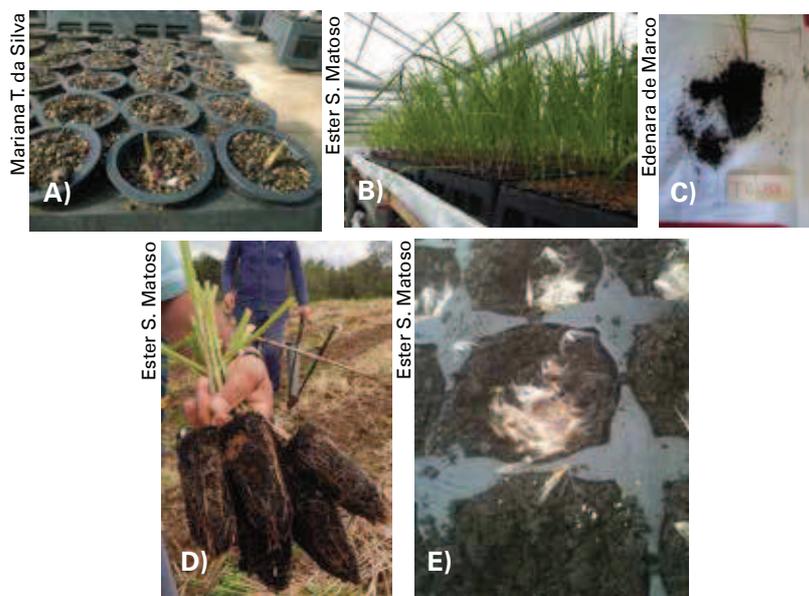
Estudos realizados comprovam que as misturas de alguns materiais, quando comparadas a um substrato comercial (Turfa Fértil), são melhores em relação à densidade volumétrica, porosidade e capacidade de retenção hídrica, devido à presença de casca de arroz carbonizada, e as características químicas, como pH e teor de nutrientes, são determinadas pelos compostos orgânicos e torta de tungue.

A fim de testar o desenvolvimento inicial de mudas via minitoletes de cana-de-açúcar em substratos produzidos com resíduo agroenergético (torta de tungue) utilizou-se substratos produzidos a partir da mistura de composto orgânico, casca de arroz carbonizada e torta de tungue e para comparação substrato comercial Turfa Fértil. Para testar a eficiência dos substratos utilizaram-se dois genótipos de cana-de-açúcar: RB867515 (maturação médio-tardia) e RB975932 (maturação precoce).

O substrato com 50% Composto Orgânico + 45% Casca de Arroz Carbonizada + 5% Torta de Tungue apresentou maiores valores para as variáveis altura e matéria da parte aérea fresca, demonstrando boa adaptação dos genótipos a esse substrato. Para a variável matéria da parte aérea seca, no substrato 30% Composto Orgânico + 65% Casca de Arroz Carbonizada + 5% Torta de Tungue, o genótipo RB867515 obteve maiores valores. Portanto, tendo em vista a substituição do substrato comercial, a fim de diminuir custos na produção das mudas, e reaproveitar resíduos agroindustriais, o substrato 50% Composto Orgânico + 45% Casca de Arroz Carbonizada + 5% Torta de Tungue apresentou os melhores resultados para as variáveis analisadas no desenvolvimento inicial das mudas via minitoletes de cana-de-açúcar.

Portanto, substratos desenvolvidos a partir da utilização de resíduos agroindustriais, domésticos e agropecuários podem substituir o uso

de substrato comercial na produção de mudas via minitoletes de cana-de-açúcar, diminuindo o custo de produção e proporcionando resultados satisfatórios.



**Figura 2.** Brotação das gemas em substrato formulado com composto, vermiculita e cinza de casca de arroz(a); produção de mudas via minitoletes de cana-de-açúcar em diferentes substratos sob ambiente protegido (b); raiz de muda de cana-de-açúcar produzida em substrato comercial (c); raízes de mudas de cana-de-açúcar produzidas em substrato contendo casca de arroz carbonizada e composto orgânico (d); e propagação de sementes de cana-de-açúcar em substrato (e).

### Lodo de esgoto como substrato

Os substratos podem ser confeccionados a partir de diferentes matérias-primas; sejam elas de origem mineral, orgânica ou sintética, de um só material ou diversos materiais em misturas. Diversas

pesquisas têm estudado diferentes composições de substratos para a produção de mudas. No caso do Rio Grande do Sul, assim como no restante do País, existem fontes orgânicas com potencial de aproveitamento, como os coprodutos das cadeias produtivas do arroz, tanto a casca de arroz carbonizada, quanto a cinza de casca de arroz; e os resíduos gerados no tratamento de água e esgoto, que em diversos países vêm sendo utilizado como insumo agrícola.

O lodo de esgoto ou biossólido é rico em nutrientes e matéria orgânica, que ao ser tratado e quando estiver em base seca pode ser coletado e utilizado na agricultura, desde que respeitados os parâmetros de qualidade ambiental, de acordo com análises químicas de patogenicidade e elementos-traço.

No Brasil, desde 2006 existe uma legislação que discorre sobre o uso agrícola do lodo – CONAMA 375 de 2006, a qual incumbe os requisitos mínimos sanitários, as formas de aplicação, as culturas permissíveis, as restrições locacionais e a aptidão do solo em áreas de aplicação, e as condições de uso. No Rio Grande do Sul, não há normativa específica que estabeleça a utilização agrícola do lodo de esgoto. Porém, pesquisas estão sendo realizadas para que, em futuro próximo, os resíduos de saneamento no estado possam estar ao alcance do produtor rural para ser utilizado como insumo, seja para fins de adubação com seu potencial nutricional, seja para incorporação em formulação de substratos para diversas culturas, inclusive a cana-de-açúcar.

Esse resíduo contempla na sua composição, elementos benéficos necessários para o desenvolvimento e produção de diversas espécies vegetais, em função da concentração de nutrientes contidos no lodo e, entre outras características de interesse, tem potencial de utilização como matéria-prima para produção de substratos, como a caracterização da Tabela 1.

**Tabela 1.** Caracterização química e patogênica do lodo de esgoto da estação de tratamento de esgoto de Rio Grande. Pelotas/RS, 2015.

pH	NUTRIENTES						ELEMENTOS-TRAÇO				PATÓGENOS		
	MO	N	P	K	Ca	Mg	Ni	Cu	Pb	Zn	Col.	Salm.	Ovos
H <sub>2</sub> O	----- % -----						----- mg Kg <sup>-1</sup> -----						
5,6	8,4	4,5	1,5	0,3	2,8	0,4	18,5	13,2	<1,0	12,2	<1,8	AUS.	<0,25

Fonte de dados: Mariana Teixeira da Silva (Col. = coliformes; Salm. = *Salmonella* sp.).

Como observado na Tabela 1, os níveis de elementos traços e patógenos são toleráveis, e permissíveis de utilização conforme os limites da resolução nacional, apresentando ausência de *Salmonella* sp. e teor nutricional elevado. Com relação ao potencial hidrogeniônico (pH), sabe-se que o pH adequado para o desenvolvimento da cana-de-açúcar é 6,0, no entanto o lodo encontra-se na faixa ideal para produção de substratos, cujos valores tidos como ideais situam-se na faixa de 5,5 a 6,5. O valor de pH é o critério químico de maior importância para o desenvolvimento das plantas, para isso deve-se atentar a esse fator no momento de formular os substratos.

Com relação aos atributos físicos, a matéria orgânica presente no lodo de esgoto influi positivamente na melhora do estado de agregação das partículas, proporcionando aumento na porosidade total, diminuição da densidade do substrato pelo aumento de aeração, e aumento da capacidade de retenção de água, que é afetada pelo número e distribuição dos poros e pela superfície específica.

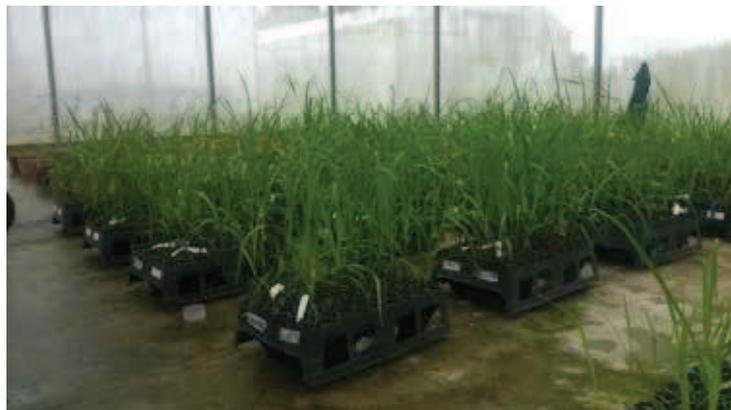


Foto: Mariana Teixeira da Silva

**Figura 3.** Mudanças via minitoletes de cana-de-açúcar aos 50 dias com substrato formulado à base de lodo de esgoto.

Através de pesquisas com o uso de resíduos de estações de tratamento de esgoto como componente de substratos para produção de mudas, conclui-se que tem se mostrado uma alternativa viável com segurança sanitária e ambiental, refletindo em economia de insumos ao agricultor e benefícios ambientais através da reciclagem agrícola do lodo de esgoto.

#### **Interação entre a inoculação de bactérias diazotróficas e o substrato escolhido para a produção de mudas**

O maior desafio encontrado na produção de um inoculante para a cana-de-açúcar está no veículo utilizado, que é o componente que permite a sobrevivência das bactérias vivas por um período que inclua desde o transporte até a sua aplicação.

Geralmente as estirpes são mantidas em turfa, que é o substrato sólido mais utilizado para veiculação dessas bactérias. No entanto, a

turfa não reúne as características desejáveis para tal fim, uma vez que, o meio deve ser atóxico, biodegradável, de fácil obtenção e manuseio, de reduzido impacto ambiental e de baixo custo, sem necessidade de condições especiais de armazenamento e transporte.

Diante da utilização de resíduos na elaboração de substratos alternativos para a produção de mudas de cana-de-açúcar e do desafio na sobrevivência das bactérias nos veículos testados, se fez necessário observar o tempo em que as estirpes selecionadas como inoculantes, permanecem vivas nos materiais usados na composição de substratos.

Um trabalho foi desenvolvido com o objetivo de testar a sobrevivência das bactérias diazotróficas em diferentes substratos para plantio, sendo eles resultantes da combinação de casca de arroz carbonizada com composto orgânico, em cinco diferentes concentrações e um substrato comercial à base de turfa. O substrato contendo apenas casca de arroz carbonizada é o que melhor mantém a presença de bactérias diazotróficas, isso porque a capacidade de retenção de água do material influencia diretamente a sobrevivência dos microrganismos. E após cerca de 20 dias da inoculação, a população das bactérias inoculadas reduziu drasticamente, apontando que já não é um bom momento para plantio de mudas em nenhum dos substratos.

Esse resultado é extremamente positivo, uma vez que, o Rio Grande do Sul responde por cerca de 70% da produção de arroz no País e gera um volume grande de resíduos após o processamento do cereal. A casca de arroz já vem sendo utilizada na produção de mudas, uma vez que características como a porosidade que esse material proporciona a um substrato permitem um bom desenvolvimento inicial das plantas, como brotação e estruturação das raízes.

## Micropropagação de cana-de-açúcar

A cana-de-açúcar sempre teve grande importância econômica para a agricultura no Brasil e agora mais ainda graças à utilização do etanol em escala mundial. Devido a isso, atualmente novas variedades estão sendo desenvolvidas e sua disponibilização tem sido acelerada por meio da biotecnologia, através da micropropagação.

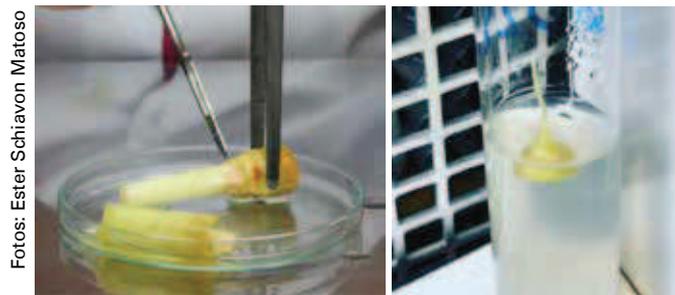
A recomendação técnica no cultivo de cana-de-açúcar sugere que 20% do canavial sejam renovados anualmente, para otimização do seu rendimento. Isso significa que 1,8 milhões de ha devem ser renovados, e conseqüentemente gerando uma demanda de 30 milhões de mudas/ano. Um dos gargalos da cadeia de produção sucroalcooleira é a disponibilidade de mudas de alta qualidade genética e fitossanitária, alto rendimento a campo e resistentes a pragas e doenças.

A propagação *in vitro* de plantas torna-se uma importante ferramenta que oferece vantagens em relação aos outros métodos comumente empregados, dentre elas a propagação de um grande número de plantas em pequeno espaço físico e em um curto espaço de tempo, uniformidade e padronização do lote (mudas idênticas geneticamente), desenvolvimento uniforme, possibilitando a programação do plantio e da colheita. Além disso, as plantas obtidas são livres de pragas e de doenças, garantindo a melhor qualidade da muda, resultando em aumento de produtividade e qualidade do produto.

A técnica de propagação dessa espécie por meio de meristema apical é considerada uma alternativa vantajosa para a multiplicação de diversas variedades, devido à economia de tempo em relação às técnicas convencionais, além da obtenção de mudas de excelente qualidade fitossanitária e geneticamente idênticas ao material que lhes deu origem.

Para a micropropagação de cana-de-açúcar, o explante inicial a ser utilizado é o meristema apical, que depois de isolado e inoculado em meio de cultura apropriado, se desenvolve dando origem às plântulas que serão então multiplicadas, enraizadas e aclimatizadas.

De plantas-mãe conduzidas a campo, são coletados colmos e destes retirados os palmitos com aproximadamente cinco centímetros de comprimento, os quais são submetidos a desinfestação, visando eliminar fungos e bactérias presentes no material. Após isso, em ambiente asséptico, são extraídos os meristemas e inoculados em meio de cultura adicionado de hormônios próprios para multiplicação do material.



Fotos: Ester Schiavon Matoso

**Figura 4.** Extração e inoculação do meristema apical em tubo de ensaio com meio de cultura.

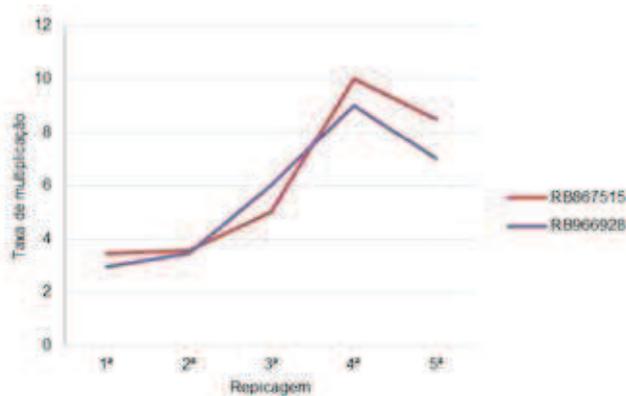
Cerca de 30-35 dias após o estabelecimento, o material já está em fase de multiplicação, sendo repicado (separadas e individualizadas as brotações) para novo meio de cultura para multiplicação. Esse processo é repetido por seis vezes a cada 25-30 dias, obtendo-se material em quantidades suficientes para enraizamento, que é realizado em meio de cultura adicionado de hormônios que dão condições às plantas de emitirem raízes, que posteriormente serão aclimatizadas e enviadas para o plantio definitivo no campo.



**Figura 5.** Variedade de cana-de-açúcar RB867515 em fase de multiplicação in vitro.

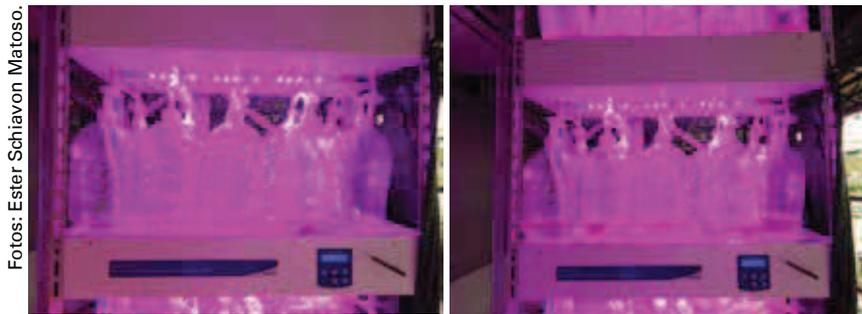
Essa técnica apresenta várias vantagens, como as citadas anteriormente, principalmente pela quantidade de material obtido no final do processo, além da qualidade fitossanitária desse.

As variedades RB867515 e RB966928, hoje bastante difundidas no Rio Grande do Sul, apresentam resultados satisfatórios na multiplicação in vitro. Suas taxas de multiplicação são variáveis conforme o subcultivo, mas a partir de um único meristema se pode obter mais de 5 mil explantes ao final de 120 dias.



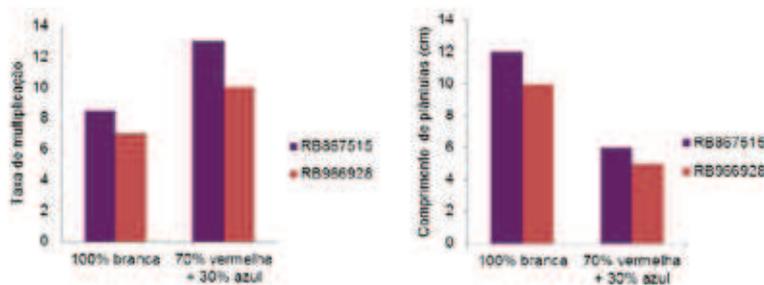
**Figura 6.** Gráfico da taxa de multiplicação das variedades RB867515 e RB966928 ao longo de cinco repicagens.

Além da técnica convencional, o uso de biorreatores de imersão temporária (BIT) na fase de multiplicação e enraizamento, vem apresentando bons resultados na produção em larga escala do material.



**Figura 7.** Multiplicação de cana-de-açúcar em BIT com iluminação de LED.

Estes equipamentos associados à iluminação de LED podem aumentar em até 50% a multiplicação de cana-de-açúcar. Isso porque luzes fluorescentes promovem o alongamento das mudas, e com a utilização de luzes nas faixas do vermelho e azul, o crescimento é inibido e a planta emite mais brotações laterais.



**Figura 8.** Gráficos da taxa de multiplicação (a) e comprimento de plântulas (b) das variedades RB867515 e RB966928 sob duas condições de luz.

## Fixação biológica de nitrogênio

Para a cana-de-açúcar, não diferente das demais culturas, o nitrogênio é necessário em grandes quantidades e o seu fornecimento ajuda a maximizar a produção de massa seca e a produtividade. No entanto, a produção de fertilizantes nitrogenados requer um enorme gasto de energia, pois o nutriente é fixado da atmosfera de forma industrial. Esse processo, quando desenvolvido por microrganismos associados às plantas, chama-se fixação biológica de nitrogênio (FBN) e tem sido amplamente estudado na cultura.

A associação mais conhecida é a da cultura da soja com bactérias do gênero *Bradyrhizobium*. As bactérias quando em contato com as raízes da soja, infectam as raízes, via pelos radiculares, formando nódulos. A FBN é a principal fonte de N na cultura e pode, dependendo de sua eficiência, fornecer toda a quantidade do nutriente de que a soja necessita.

Já na cana-de-açúcar, a inoculação de bactérias diazotróficas, assim como a adubação nitrogenada, responde diferentemente ao genótipo da planta, ao tipo de solo e ao ambiente. E para que esta tecnologia com microrganismos contribua de forma efetiva nos ganhos de produtividade dos canaviais brasileiros, com redução das adubações nitrogenadas, precisamos conhecer estas diferenças.

### Inoculante

Estirpes pertencentes às espécies *Gluconacetobacter diazotrophicus*, *Herbaspirillum seropedicae*, *Herbaspirillum rubrisubalbicans*, *Azospirillum amazonense* e *Burkholderia tropica*, atualmente denominada *Paraburkholderia tropica*, são testadas como inoculantes pela Embrapa Agrobiologia.

Geralmente a veiculação das bactérias é feita em meio sólido, à base de turfa, mas pode ser em meio líquido ou também outras formulações. O mais importante é que material mantenha a sobrevivência dos microrganismos até a sua aplicação na cultura, devendo ter a população mínima de  $1 \times 10^8$  células/g ou mL de inoculantes.

Foto: Ester Schiavon Matoso



**Figura 9.** Inoculantes à base de turfa para uso na cana-de-açúcar.

### **Como proceder à inoculação**

A inoculação pode ser feita a campo diretamente em cana-planta e também em cana-soca. Mas diante da crescente adesão aos sistemas de produção de mudas de cana-de-açúcar, para mudas via minitoletes indica-se que a inoculação seja feita nos minitoletes, antecipando o plantio deles no substrato para a brotação. Os inoculantes são embalados separadamente, conforme a espécie de bactéria, mas devem ser diluídos juntos, em 50L de água. Em seguida os toletes devem ser imersos nesta solução bacteriana, onde permanecem por cerca de 30 minutos.



Foto: Ester Schiavon Matoso

**Figura 10.** Preparo da solução bacteriana para inoculação dos minitoletes de cana-de-açúcar.

No cultivo *in vitro*, entretanto, a inoculação é feita na fase de enraizamento do material de propagação, ainda em condições de laboratório. A diluição das bactérias é feita no meio MS modificado, próprio para enraizamento, em forma líquida e sem adições de hormônios nem ácido cítrico. Os explantes de cana-de-açúcar são alocados em frascos contendo meio semissólido ou em garrafas com meio líquido para enraizamento em biorreator de imersão temporária. A quantidade de inóculo indicada é cerca de 100 microlitros a cada 50 mL de meio.

#### **Respostas à inoculação em variedades indicadas para o RS**

Para verificar a eficiência do processo de inoculação foram realizados diversos trabalhos, onde foram observadas características de brotação, crescimento e desenvolvimento da parte aérea, enraizamento e teor de nitrogênio de mudas oriundas do sistema de mudas via minitoletes. E também a campo, após o transplante das

mudas, avaliou-se o perfilhamento, as condições de coloração da folha, desenvolvimento e produção de biomassa, além do nitrogênio total na cana-planta.

Onde foi efetuada a inoculação, houve um aumento na velocidade de brotação e no desenvolvimento de raízes das mudas, sendo que o ponto-chave para o “pegamento” da muda no campo é a qualidade da sua raiz.

Fotos: Ester Schiavon Matoso



**Figura 11.** Desenvolvimento de raízes de mudas inoculadas com bactérias diazotróficas.

As respostas em cana-planta também são extremamente positivas, o que permite a conclusão de que a inoculação de bactérias diazotróficas é capaz de suprir, total ou parcialmente, as necessidades nutricionais da cana-de-açúcar em relação ao nitrogênio. Mas há ainda muitos questionamentos sobre os reais benefícios da FBN para a cana, que devem ser respondidos antes da liberação e comercialização do inoculante.