

## **PROJETO DE PESQUISA**

### **Seleção de projetos de pesquisa e extensão - IMESB 2016**

#### **Promoção de desenvolvimento de mudas de cana-de-açúcar pelo Sistema de Mudas Pré Brotadas (MPB) utilizando *Trichoderma spp***

##### **Equipe executora:.**

Professora orientadora: Osania Emerenciano Ferreira - Doutora em Microbiologia Agropecuária

Professora orientadora: Samira Furtado de Queiroz - Doutoranda em Agronomia "Ciência do Solo"

## RESUMO

Com o intuito de aumentar a produção de cana-de-açúcar e reduzir os custos de implantação dos tem-se utilizado de mudas pré-brotadas (MPB). Neste sistema o tolete da cana é fracionado em pequenos toletes (mini toletes) com uma única gema. Este sistema permite a multiplicação rápida de viveiros com qualidade e uniformidade, e menor custo de produção. Vários fatores podem influenciar na brotação de MPB por exemplo o emprego de micro-organismos promotoras de crescimento. Estes microrganismos estão presentes no solo e podem intervir na produção agrícola beneficiando o crescimento das plantas, com destaque para o *Tricodema sp.* Este trabalho propõe avaliar o desempenho de gemas as incubados com o fungo o *Tricodema sp* em sistema de MPB.

## 1 INTRODUÇÃO

A cana-de-açúcar foi descrita em 1753 por Linneu, no seu livro *Species Plantarium*, a classificou como *Saccharum officinarium* e *Saccharum spicatum*. É uma gramínea perene, que perfilha de maneira abundante, na fase inicial do desenvolvimento. Desenvolve-se caracteristicamente em forma de touceira (moita), possui uma parte aérea formada pelo colmo que é cilíndrico, ereto, fibroso e rico em açúcar, com diâmetro e comprimentos variados, sendo esta a parte da cana-de-açúcar de maior interesse econômico, folhas inflorescência (conjunto de flores arranjadas em haste) mais os frutos, a parte subterrânea é formada por raízes e rizomas (caules subterrâneos ricos em material de reserva) (CASAGRANDE, 1991). O teor de açúcares acumulados no colmo varia, principalmente, em decorrência de fatores hídricos, nutricionais e térmicos (SEGATO et.al., 2006; CASAGRANDE, 1991)

A base de uma boa cultura depende da brotação, é neste estágio, onde ocorre o estabelecimento inicial das plantas no campo (brotação, enraizamento e emergência dos brotos). Em plantios comerciais, a propagação da cana-de-açúcar é feita através de pedaços de colmos, denominados toletes ou rebolos. O corte da cana em toletes visa reduzir a “predominância apical”. Quando não há este seccionamento a muda tem propensão de fazer vegetar somente as gemas da base e da ponta do mesmo, provocada pela ação das enzimas nas gemas laterais, (MARIN, 2007).

O sistema de Mudanças Pré-Brotadas (MPB) de cana-de-açúcar é uma tecnologia que pode auxiliar sua multiplicação, contribuindo para a produção rápida de mudas, combinando alto padrão de fitossanidade, vigor e um plantio uniforme (GOMES, 2013). O sistema de MPB

substitui o método convencional de plantio que utiliza toletes podendo reduzir em até 90% a quantidade de material utilizado. No sistema tradicional, o consumo de mudas varia de 18 a 20 toneladas por hectare, enquanto no sistema de MPB são duas toneladas (COPLANA PRODUTOR, 2013).

Uma das vantagens da produção do etanol utilizando a cana-de-açúcar como matéria-prima é a geração de sub-produtos, como o bagaço da cana-de-açúcar utilizada como a energia no processo industrial da produção de etanol. A utilização de fertilizantes na cultura de cana-de-açúcar no Brasil é baixa (aproximadamente 0,425 tonelada por hectare), sendo utilizados como sub-produto da cana-de-açúcar os resíduos industriais da produção do etanol e açúcar, a vinhaça e a torta de filtro, como fertilizantes orgânicos (UNICA, 2009).

A utilização de resíduos da indústria sucroenergética e a utilização de microrganismos promotores de crescimento no processo produtivo de mudas de cana por MPB, podem auxiliar na produção de mudas mais robustas. De acordo com Pomella e Ribeiro (2009) os *Trichoderma* spp. são fungos de vida livre, ubíquos e altamente interativos na raiz do solo, bem como no interior de plantas, são considerados saprófitos e têm despertado interesse científico e aplicados como agentes de controle biológico e promotores de crescimento.

Portanto, o presente projeto tem por objetivo avaliar se isolados de *Trichoderma* spp. provenientes de solo onde se cultivava bananeira e soja, promovem melhoria no desenvolvimento de mudas de cana-de-açúcar pelo processo de produção por MPB.

## **2 JUSTIFICATIVA**

A cana-de-açúcar é plantada através de toletes, que nos quais fazem parte o colmo, geralmente cilíndrico, com a cor característica da variedade, é formado de nó e entrenó, o diâmetro varia de acordo com as condições de solo, clima e variedade (MARIN, 2007). Para o cultivo comercial de cana adota-se o sistema convencional, utilizado no Brasil desde a chegada das primeiras cana, por volta de 1.530. O cultivo comercial de cana, onde os colmos são plantados-distribuídos em sulcos de 20-25cm de profundidade. As gemas, ao brotarem, rompem as escamas da gema e bainhas das folhas, iniciando o desenvolvimento em direção à superfície do solo.

Recentemente o foi desenvolvido pelo Instituto Agrônômico (IAC), o sistema de Mudanças Pré- Brotadas (MPB) de cana é uma tecnologia de multiplicação, no lugar dos colmos

como sementes, entram as mudas pré-brotadas, que são produzidas a partir de cortes de canas chamados minirrebolos, formados por uma única gema. Este novo sistema e poderá contribuir para a produção rápida de mudas, associando elevado padrão de fitossanidade, vigor e uniformidade de plantio. Outro grande benefício está na redução da quantidade de mudas que vai a campo. Para o plantio de um hectare de cana, o consumo de mudas cai de 18 a 20 toneladas, no plantio convencional, para 2 toneladas no MPB (LANDEL, CAMPANA, FIGUEIREDO 2012)

Por ser uma nova maneira de produzir mudas o sistema de MPB ainda é carente de informações quanto a utilização de micro-organismos promotores de crescimento. Assim espécies como de *Trichoderma* podem ser uma ótima forma de acelerar a formação de raízes em sistema de MPB para produção de mudas de cana. De acordo com Chet et al. (1997), as espécies de *Trichoderma* possuem alta capacidade reprodutiva, habilidade de sobreviver em condições desfavoráveis, eficiência na mobilização e na absorção de nutrientes, o que os coloca como excelentes promotores de enraizamento de plântulas e efeito antagônico contra fungos patogênicos. O aumento da superfície total do sistema radicular, possibilita maior acesso aos elementos minerais nele presentes possibilitando um desenvolvimento rápido de mudas de cana.

O sucesso no uso de espécies de *Trichoderma* se deve ao fato de serem capazes de solubilizar e disponibilizar para a planta o fosfato de rocha, ferro, cobre, manganês e zinco, podendo também melhorar os mecanismos ativos de absorção de cobre, fósforo, ferro, manganês, sódio, cobalto, cádmio, cromo, níquel, chumbo, vanádio, magnésio, boro, zinco e alumínio; além de facilitar a absorção de alguns nutrientes importantes, como o nitrogênio por exemplo (LUCON, 2009). Também são capazes de atuar como agentes de controle de doenças de várias plantas cultivadas, promotores de crescimento e indutores de resistência de plantas (MOHAMED; HAGGAG, 2006).

Em cultivos comerciais de cana de açúcar são utilizados resíduos do processo produtivo de etanol e açúcar tais como a vinhaça e a torta de filtro. A vinhaça é um subproduto da produção do etanol, butanol e aguardente, conhecida também como vinhoto (REZENDE, 1984), sendo produzidos geralmente de 10 a 18 litros de vinhaça para cada litro de etanol (WADT, 2008). É constituída principalmente por matéria orgânica, basicamente sob a forma de ácidos orgânicos e, em menor quantidade, por cátions como o K, Ca e Mg (ROSSETTO, 1987). A vinhaça pode ser utilizada como fertilizante e possui como vantagem ser substituinte

da adubação mineral e ainda fornecer água para a cana-de-açúcar nos períodos de seca (RESENDE, et al., 2006).

A torta de filtro é obtida nos filtros rotativos após extração da sacarose residual da borra. Sua composição varia de acordo com a variedade da cana, tipo de solo, maturação da cana, processo de clarificação do caldo e etc (ALMEIDA, 1944). Possui fósforo orgânico e sua liberação acontece aos poucos por mineralização e por ataque de microrganismos no solo (SANTOS et al., 2011), sua aplicação mostrou-se eficiente no fornecimento de fósforo para a cana-de-açúcar (DIANRDO-MIRANDA et al. 2010).

Diversos trabalhos disponibilizados na literatura salientam a importância da aplicação de torta de filtro e de vinhaça para o desenvolvimento da cultura de cana, porém não se encontra relatos do efeito da vinhaça e da torta de filtro sobre a atividade de isolados de *Trichoderma*. Diante do exposto este trabalho pretende-se avaliar a capacidade isolados de *Trichoderma* spp. provenientes de solo onde se cultivava bananeira e soja na promoção do desenvolvimento de mudas de cana pelo sistema de MPB.

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 OBJETIVO GERAL**

Avaliar a capacidade isolados de *Trichoderma* spp. provenientes de solo onde se cultivava bananeira e soja no desenvolvimento de mudas de cana pelo sistema de MPB e avaliar se o uso dos subprodutos utilizados como fertilizantes naturais, vinhaça e torta de filtro, alteram o desempenho desses fungos.

#### **3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Avaliar a influência do *Trichoderma* spp. no desenvolvimento da gema de cana-de-açúcar;
- Avaliar o desenvolvimento de sistema radicular e foliar da cana-de-açúcar.

### **4 MATERIAIS E MÉTODOS**

As análises serão realizadas no laboratório do Instituto Municipal de Bebedouro - IMESB. O experimento será realizado em tubetes distribuídos em bandejas, com duração de 60 dias.

#### **4.1 Obtenção das gemas**

Será utilizado gemas de cana provenientes de áreas de viveiro com idade fisiológica de 6 a 10 meses 8 meses, as mesmas serão cortadas com instrumentos de corte tipo “podão”, previamente desinfestados com amônia quaternária. Para o corte e a preparação dos minirrebolos (gema individualizada), será utilizado um sistema de guilhotina com lâmina dupla devidamente desinfestado (XAVIER et al., 2008). O tamanho do minirrebolo para esse modelo de multiplicação será de 3 cm, viabilizando a utilização da gema individualizada no tubete. Será realizada uma seleção das melhores gemas eliminando do processo os minirrebolos com sintomas de *Diatraea saccharalis* e eventuais danos mecânicos das gemas, maximizando etapas posteriores. As gemas serão submetidas a pré tratamento térmico a 52°C por 30 min segundo sanguino et al., (2006).

##### **4.1.1 Inoculação isolados de *Trichoderma* spp nas gemas**

Serão utilizados: 1 isolados de isolados de *Trichoderma* spp. provenientes de solo onde se cultivava bananeira e 1 de soja que fazem parte da coleção de isolados do Laboratório de Fitopatologia e Controle biológico do Centro de Citricultura Sylvio Moreira/IAC, em Cordeirópolis/SP. Para ativação das cepas de *Trichoderma* spp. Será utilizado meio de cultura BDA (Batata, Dextrose, Agar) os fungos serão incubados a 25 °C e com fotoperíodo de 12 h, durante sete dias. A inoculação do fungo será realizada nas gemas antes do plantio as mesmas serão imersa em água esterilizada (controle) e em suspensão composta por água destilada e inoculante (Será feita contagem de esporos em câmara de Neubauer e adotado o valor de  $5.10^5$  esporos.mL<sup>-1</sup> para inoculação). O tempo de imersão será de 60 minutos e, em seguida, as gemas serão plantadas em tubetes.

No fim dessa etapa 30 dias após a semeadura (d.a.s), será feita a primeira análise e poda foliar realizada com tesouras devidamente desinfestadas. Esse manejo estimula o desenvolvimento radicular e minimiza as perdas de água. (LANDEL, CAMPANA, FIGUEIREDO 2012). Após 60 dias será feita nova avaliação das mudas.

##### **4.1.4 Delineamento experimental**

O delineamento será em blocos casualizados com quatro repetições, arranjados em esquema fatorial simples.

#### **4.2 Avaliações**

#### **4.2.1 Altura da planta**

A altura (cm) será determinada medindo-se da base da planta até a lígula da folha +1 (sistema de numeração de Kuijper) utilizando régua graduada.

#### **4.2.2 Matéria seca**

Será determinada a massa de matéria seca radicular (MSR), parte aérea (MSPA) e total (MST), desmembrando a planta em parte aérea (colmo, folhas verdes e folhas secas/palha) e raízes. O material será lavado para retirada de impurezas, seco em estufa a 65 °C. Após a secagem, o material será pesado, para posterior determinação de MSR e MSPA. A MST será adquirida pela somatória da MSR com a MSPA.

#### **4.2.3 Análises de crescimento**

##### **>Área foliar (AF)**

Após a retirada das folhas verdes será realizado a medida de Área foliar AF(cm<sup>2</sup>) com um medidor portátil.

##### **>Matéria seca**

Serão retiradas as partes aéreas de cada vaso, separados em colmos, folhas verdes e palha. A seguir, serão colocados em sacos de papel e levados a estufa à 65°C até atingir massa constante. Cada parte da planta será pesada em balança semi-analítica para determinação da matéria seca de colmos (MSC), folhas (MSF) e palha (MSP).

O sistema radicular será separado do solo no campo e retirada com auxílio de peneiras sobrepostas e de água corrente. As raízes serão levadas ao Laboratório colocadas em sacos de papel e levadas à estufa a 65°C, até obter massa constante. Após secas, as amostras serão pesadas em balança semi-analítica e se obterá as massas de matéria seca de raízes (MSR).

A matéria seca total (MST) será obtida pela soma da matéria seca (g) de todas as partes da planta (MSC, MSF, MSP e MSR).

#### **4.3.4 Avaliação da colonização endofítica de Trichoderma nas mudas**

De cada tratamento, a partir dos 30 dias de transferência para os vasos será avaliado a colonização dos fungos nos tecidos vegetais. As plantas serão lavadas em água corrente sem ferí-las. Em seguida será uma desinfestação superficial, como descrita a seguir: duas imersões em água esterilizada por 30 segundos, seguida de solução de álcool 70% por um minuto,

hipoclorito de sódio a 2% por quatro minutos, novamente em solução de álcool 70% por mais 30 segundos e mais três vezes em água destilada por um minuto, conforme utilizado por Pimentel e outros (2006). Serão utilizados quatro pedaços de cada parte da planta obtidas da seguinte maneira: discos de 5 mm de folhas, caule e raiz. Os materiais serão plaqueados de acordo cada parte da planta e de cada tratamento. Em seguida serão colocados em BDA e incubados em B.O.D à temperatura de 25°C com fotoperíodo de 12 horas durante cinco dias. Após esse período, com auxílio de microscópio estereoscópico, será verificada se houve o reisolamento das espécies de *Trichoderma* nas diferentes amostras coletadas para análise.

## 5 REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, J. R. **As tortas da usinas de Açúcar**. Brasil Açucareiro. Rio de Janeiro. 24 (2) :91-3. Agosto 1944.
- CASAGRANDE, A. A. **Tópicos de Morfologia e Fisiologia da Cana-de-açúcar**. 1991. UNESP FUNEP, Jaboticabal-SP.
- CHET, I.; INBAR, J.; HADAR, I. Fungal antagonists and mycoparasites. In: WICKLOW, D. T., SODERSTROM, B. (ed.) **The mycota IV: Environmental and microbial relationships**. Berlin: Springer-Verlag. 1997. p. 165-184.
- COPLANA PRODUTOR, Guariba, ano 10, n. 83, p. 1-28, dez. 2013.
- DIANRDO-MIRANDA, L.L.; VASCONCELOS, A.C.M.; LANDELL, G.A. **Cana-de-açúcar**. 01 ed. Campinas, SP: Instituto Agrônômico, 2010.
- GOMES, C. **Sistema muda conceito de plantio**. A Lavoura. n. 696, p. 38. 2013
- LANDELL, M.G.A; CAMPANA, M.P; FIGUEIREDO, P. Sistema de multiplicação de cana-de-açúcar com uso de mudas pré-brotadas (MPB), oriundas de gemas individualizadas . Campinas: Instituto Agrônômico, 2012. 16 p; (Documentos IAC, N.109).
- LUCON; C. M. M.2009 **Promoção de crescimento de plantas com o uso de *Trichoderma* spp.** Disponível em:< [http://www.biologico.sp.gov.br/artigos\\_ok.php?id\\_artigo=94](http://www.biologico.sp.gov.br/artigos_ok.php?id_artigo=94)> Acesso em 10 de out. de 2015.
- MOHAMED, H. A. L. A.; HAGGAG, W. M. Biocontrol potential of salinity tolerant mutants of *Trichoderma harzianum* against *Fusarium oxysporum*. **Braz. J. Microbiol.**, v. 37, n. 2, p. 181-191, 2006.

UNIÃO DA INDÚSTRIA DE CANA-DE-AÇÚCAR (UNICA). **Sustentabilidade - Meio Ambiente**, 2009. Acesso 08/2009. Disponível em: <http://www.unica.com.br/content/show.asp?cntCode={0C8534A8-74A7-4952-8280-C5F6FB9276B7}>. Acesso em: 10 de out. de 2015.

MARIN, F.R. **Fenologia**. Agência de informação Embrapa - Cana-de-açúcar, 2007. Disponível em: [http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/cana-de-acucar/arvore/CONT\\_AG01\\_68\\_22122006154840.html](http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/cana-de-acucar/arvore/CONT_AG01_68_22122006154840.html) >. Acesso em: 01 de dez. de 2011.

POMELLA, A.W.V; RIBEIRO, R.T.S. Controle biológico com *Trichoderma* em grandes culturas – Uma visão empresarial. **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas** p.235-244, 1º ed. Jaguariuna, 2009.

RAIJ, B. van; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A.; FURLANI, A.M.C. **Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo**. 2.ed. Campinas: Instituto Agrônomo, 1997. 255p. (Boletim Técnico, 100).

REZENDE, J. O. **Vinhaça: Outra Grande Ameaça ao Meio Ambiente**. UFBA, 1984.

ROSSETTO, A. J. **Utilização agrônômica dos subprodutos e resíduos da indústria açucareira e alcooleira**. In: Paranhos, S.B. (ed.). Cana-de-açúcar: cultivo e utilização. Campinas:Fundação Cargill, 1987, v.2, p.435-504.

SANGUINO, A.; MORAES, V.A.; CASAGRANDE, M.V. Curso de formação e condução de viveiros de mudas de cana-de-açúcar. 2006. 43p.

SANTOS, D.H. et al. **Qualidade tecnológica da cana-de-açúcar sob adubação com torta de filtro enriquecida com fosfato solúvel**. Revista Brasileira de Engenharia Agrícola Ambiental, Campina Grande, PB, v.15, n.5, p.443–449, 2011.

SEGATO, S. V.. **Atualização em produção de cana-de-açúcar**. Piracicaba: CP2, 2006.

## **6 EQUIPE EXECUTORA**

Membro 1. Professora orientadora: Osania Emerenciano Ferreira - Doutora em Microbiologia Agropecuária

Membro 2. Professora orientadora – Samira Furtado de Queiroz - Doutoranda em Agronomia “Ciência do Solo”

## 7 DURAÇÃO TOTAL PREVISTA

O projeto terá duração de 08 meses e será desenvolvido no período entre 01 de março de 2016 a 28 de fevereiro de 2017, conforme especificado no Edital, com desenvolvimento conforme exposto Cronograma de Execução.

## 8 CRONOGRAMA DE EXECUÇÃO

Atividades	Meses							
	05	06	07	08	09	10	11	12
	Noções básicas de pesquisa revisão de bibliografias a respeito do Projeto	X	X	X	X	X	X	X
Ensaio preliminares de adequação das condições experimentais	X	X	X					
Inoculação das MPB				X				
Avaliações das MPB				X				
Avaliações de crescimento da cana de açúcar				X	X	X		
Análise estatística								
Elaboração do relatório técnico						X	X	
Atividade acadêmicas e/ou extracurriculares					X		X	

