



FERTBIO 2012

A responsabilidade socioambiental da pesquisa agrícola
17 a 21 de Setembro - Centro de Convenções - Maceió/Alagoas

Avaliação quantitativa da microbiota em solo de cultivo de soja transgênica em seis locais do Brasil.

André Shigueyoshi Nakatani⁽¹⁾; Mariangela Hungria⁽²⁾; Iêda Carvalho Mendes⁽³⁾; Fabio Bueno dos Reis Junior⁽³⁾; Marcelo Ferreira Fernandes⁽⁴⁾

⁽¹⁾ Bolsista de pós-doutorado (PNPD/CNPq), Embrapa Soja, nakatani@cnpso.embrapa.br; ⁽²⁾ Embrapa Soja, Cx. Postal 231, 86001-970, Londrina, PR, hungria@cnpso.embrapa.br; ⁽³⁾ Embrapa Cerrados, Cx. Postal 08223, 73301-970, Planaltina, DF; ⁽⁴⁾ Embrapa Tabuleiros Costeiros, Cx. Postal 44, 49024-040, Aracaju, SE, marcelo@cpac.embrapa.br.

RESUMO – A biomassa microbiana é responsável por funções chave para a qualidade do solo, e o cultivo de soja transgênica bem como o uso de herbicidas pode causar alterações sobre esse importante componente biológico do solo. O objetivo do presente trabalho foi avaliar quantitativamente o carbono (CBM) e o nitrogênio (NBM) da biomassa microbiana de solo cultivado com soja transgênica e aplicação de herbicidas em seis locais do Brasil na safra 2005/2006. O delineamento experimental foi de bloco ao acaso, com seis repetições, em sistema de plantio direto. Os tratamentos foram: T1: soja transgênica + glifosato; T2: soja transgênica + herbicidas convencionais; T3: soja parental convencional + herbicidas convencionais; T4: soja transgênica + capina manual; T5: soja parental convencional + capina manual, combinados com três cultivares em cada local estudado, totalizando 15 tratamentos. Os solos foram coletados no estágio R2 na profundidade 0-10 cm para a avaliação do CBM e do NBM. A análise de contrastes mostrou que o CBM não foi afetado pela transgenia, com exceção de Uberaba (MG). Não houve diferenças entre o manejo convencional da soja (soja e herbicidas convencionais) e o transgênico (soja transgênica com glifosato) em relação ao CBM, também com exceção de Uberaba. O NBM, em geral, não foi afetado pela transgenia. Em dois locais (Ponta Grossa/PR e Passo Fundo/RS), o manejo convencional apresentou maior NBM, enquanto o manejo transgênico com glifosato foi superior em Luiz Eduardo Magalhães (BA). Conclui-se que o cultivo transgênico da soja não afetou a biomassa microbiana do solo.

Palavras-chave: transgenia, glifosato, biomassa microbiana.

INTRODUÇÃO – O cultivo de plantas transgênicas iniciou-se em 1996 nos Estados Unidos, desde então, vem se expandindo rapidamente por vários países, sendo que grande parte dessas áreas é cultivada com soja. O Brasil é o segundo país em área cultivada com soja transgênica, com 18 milhões de hectares em 2010 (James, 2010).

Apesar dos benefícios do uso de plantas transgênicas, como a maior produtividade e a redução no uso de agrotóxicos, questões relacionadas à segurança dos

transgênicos, à saúde humana e ao ambiente são amplamente discutidas (Cerqueira et al., 2007).

Segundo Souza et al. (2008a), a análise de risco, que é a estimativa do impacto ambiental, é um processo de avaliação que inclui a identificação das incertezas, das probabilidades e da severidade dos efeitos adversos ao homem, ou ao meio ambiente, após a exposição a determinadas fontes de risco.

Sabe-se que a biomassa microbiana desempenha funções importantes para a funcionalidade do solo, como decomposição de matéria orgânica, ciclagem de nutrientes, controle biológico e degradação de pesticidas, além de responder rapidamente a distúrbios ambientais (Wardle e Hungria, 1994). O uso de plantas transgênicas e de herbicidas específicos, como o glifosato, podem causar alterações nesse importante componente biológico do solo (Pereira et al., 2008), sendo de grande interesse o seu estudo para avaliações de impacto ambiental decorrentes dessa prática.

O objetivo do presente trabalho foi avaliar a biomassa microbiana de solo sob cultivo de soja transgênica com aplicação de glifosato em seis locais do Brasil na safra 2005/2006, em comparação com o manejo tradicional da soja.

MATERIAL E MÉTODOS – As avaliações foram realizadas em ensaios conduzidos com soja convencional e transgênica para tolerância ao herbicida glifosato. Os experimentos foram conduzidos em delineamento experimental de blocos ao acaso, com seis repetições, em sistema de plantio direto, na safra 2005/2006, em seis locais: Londrina (PR), Ponta Grossa (PR), Passo Fundo (RS), Uberaba (MG), Planaltina (DF) e Luiz Eduardo Magalhães (BA). Os tratamentos foram: T1: soja transgênica + glifosato (2,0 L/ha, 20 a 30 dias após a emergência); T2: soja transgênica + herbicidas convencionais (de acordo com recomendação técnica); T3: soja parental convencional + herbicidas convencionais; T4: soja transgênica + capina manual; T5: soja parental convencional + capina manual. Em cada local foram utilizados três pares de cultivares, totalizando 15 tratamentos.

Na Região Sul foram utilizadas as cultivares Embrapa 58/BRS242RR; BRS133/BRS245RR; Embrapa

59/BRS244RR. Na Região Central foram utilizadas as cultivares Conquista/ConquistaRR; Celeste/BalizaRR; Jataí/SilvâniaRR.

As sementes de soja foram inoculadas com inoculante turfoso contendo 10^9 células/g de turfa e contendo as estirpes SEMIA 587+5080. A semeadura foi manual, com 25 a 30 sementes viáveis por metro linear. As parcelas experimentais tinham 5,0 m x 6,0 m (área útil de 2 x 3 m) e distanciadas em 1,0 m. As parcelas foram compostas por 10 linhas com 0,5 m de espaçamento.

No estágio R2, foram coletadas 10 subamostras de cada parcela, na camada 0-10 cm, para formar a amostra composta e avaliação quantitativa da microbiota do solo.

Para a determinação do carbono da biomassa microbiana (CBM) foi utilizado o método de fumigação-incubação de Jenkinson e Powlson (1976), com modificações de Balota et al. (1998). O nitrogênio da biomassa microbiana (NBM) foi avaliada segundo metodologia de Brookes et al. (1984).

Os dados foram submetidos à análise de variância, depois de avaliadas as pressuposições de normalidade e independência dos resíduos, aditividade do modelo e homogeneidade de variâncias dos tratamentos sendo as médias comparadas pelo teste de Duncan ($p < 0,05$) (Steel e Torrie, 1960). O teste de contrastes foi utilizado para a comparação do efeito do evento transgênico e do glifosato sobre os parâmetros de CBM e NBM. Os contrastes testados são os seguintes (V = cultivar): Transgênicos X Não transgênicos (tratamentos com herbicida convencional e capina) (T2-V1, V2 e V3, T4-V1, V2 e V3 X T3-V1, V2 e V3, T5-V1, V2 e V3), Transgênico com glifosato x transgênico com herbicida convencional (T1-V1, V2 e V3 X T2-V1, V2 e V3) e Transgênico com glifosato X Não transgênico com herbicida convencional (T1-V1, V2 e V3 X T3-V1, V2 e V3). A significância dos contrastes foi comparada pelo teste t de Student ($p \leq 0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO – A análise de variância dos dados CBM mostrou que houve efeito dos tratamentos, com exceção de Planaltina. Os valores do CBM variaram bastante de acordo com o local de avaliação (Tabela 1). Os maiores valores foram observados em Passo Fundo, enquanto os menores foram encontrados em Uberaba. Não se verificou diferenças consistentes entre as cultivares. Somente em Passo Fundo a cultivar BRS133 e sua respectiva transgênica BRS245RR apresentaram maiores valores que as outras duas cultivares.

Para o NBM houve efeito dos tratamentos em todas as áreas avaliadas. Assim como foi observado para o CBM, os valores do NBM também oscilaram bastante com as áreas (Tabela 2). Os maiores valores foram registrados em Planaltina e os menores em Uberaba. Entre as cultivares, somente em Londrina e Passo Fundo observou-se que a cultivar Embrapa 59 e sua respectiva transgênica BRS244RR apresentaram maiores valores de NBM que a cultivar BRS133 e sua respectiva transgênica BRS245RR.

Vários fatores podem contribuir para explicar a variação da biomassa microbiana entre as diferentes áreas, como o clima, o tipo de solo, a umidade, a pluviosidade, o pH do solo, a disponibilidade de nutrientes, entre outros (Franchini et al., 2007).

Em estudo prévio de Souza et al. (2008b), pela avaliação exaustiva da variabilidade dos dados de CBM e NBM em várias regiões do Brasil, concluiu-se que os limites aceitáveis para a variabilidade desses dados é de um CV de até 35%. No presente estudo, em mais de 50% das áreas os dados de CBM e NBM se situaram dentro deste limite (Tabela 1 e 2), indicando a robustez destas variáveis.

Souza et al. (2008a), avaliando e validando um conjunto mínimo de variáveis respostas para o monitoramento, em campo, da microbiota do solo, concluíram que tanto o CBM como o NBM apresentaram-se adequados para a avaliação de possíveis efeitos na microbiota do solo pela adoção de novas tecnologias na cultura da soja, permitindo o monitoramento em avaliações de risco ambiental.

Na análise de contrastes dos efeitos dos tratamentos sobre o CBM (Tabela 3), não foi observado efeito da transgenia, comparando-se somente os tratamentos com herbicida convencional e capina, em cinco dos seis locais avaliados. Somente em Uberaba a transgenia promoveu um incremento significativo. Na comparação dos efeitos dos diferentes herbicidas, o herbicida convencional aumentou significativamente o CBM em Uberaba, nas outras cinco áreas os tratamentos com glifosato apresentaram maiores valores, porém, não significativos. Outros estudos também não verificaram efeito significativo do uso do glifosato sobre o CBM (Zilli et al., 2008).

Quando os dois tipos de manejo da soja (cultivo convencional, com soja não transgênica com herbicida convencional x cultivo transgênico com glifosato) foram comparados, verificou-se que não houve diferença quanto ao CBM do solo, apesar de em cinco locais os valores terem sido superiores no tratamento com soja transgênica e glifosato, que foi significativo apenas em Uberaba.

Os resultados das análises de contrastes dos efeitos dos tratamentos sobre o NBM são apresentados na Tabela 4. Não houve efeito da transgenia sobre essa variável. Em Luiz Eduardo Magalhães a transgenia aumentou significativamente o NBM, enquanto nos outros cinco locais houve uma sequência de maiores valores nos não transgênicos, no entanto, somente foi significativo em Ponta Grossa. Com relação aos herbicidas, não se observou efeito significativo em nenhum local. Em geral não houve diferença consistente entre os dois tipos de manejos. O cultivo transgênico com glifosato apresentou maior NBM em Londrina e Luiz Eduardo Magalhães, sendo significativo apenas no último. Nos outros quatro locais o cultivo convencional (não transgênico com herbicida convencional) apresentou maiores valores de NBM, sendo significativo em Ponta Grossa e Passo Fundo.

A biomassa microbiana é composta por vários grupos de microrganismos, e estes estão em constante interação com o ecossistema. A introdução de plantas transgênicas e do glifosato ao sistema pode ter alterado, em maior ou menor intensidade, diferentes grupos microbianos sem, no entanto, alterar a biomassa microbiana total (Zilli et al., 2008), fato que pode ajudar a explicar a ausência de efeitos dos tratamentos sobre essas variáveis.

Apesar de não ter sido verificado efeito consistente da transgenia no CBM e no NBM do solo, é necessário um monitoramento por várias safras para a confirmação dos resultados e avaliação do impacto ambiental do cultivo de soja transgênica com glifosato sobre esses atributos (Böhm e Rombaldi, 2010).

CONCLUSÕES – O CBM e o NBM são atributos viáveis para serem utilizados em ensaios de monitoramento ou análise de risco ambiental, visto que em mais da metade das áreas analisadas, o dados se situaram dentro do limite aceitável de variabilidade.

O CBM e o NBM do solo não foram afetados pela transgenia.

Não houve diferença na biomassa microbiana do solo entre os tipos de manejo da soja: cultivo convencional da soja (não transgênico com herbicida convencional) e o cultivo da soja transgênica com glifosato.

REFERÊNCIAS

Balota, E.L.; Colozzi-Filho, A.; Andrade, D.S.; Hungria, M. Biomassa microbiana e sua atividade em solos sob diferentes sistemas de preparo e sucessão de culturas. **R. Bras. Cienc. Solo**, 22:641-649, 1998.

Bohm, G. M. B.; Rombaldi, C. V. Transformação genética e aplicação de glifosato na microbiota do solo, fixação biológica de nitrogênio, qualidade e segurança de grãos de soja geneticamente modificada. **Cienc. Rural**, 40:213-221, 2010.

Brookes, P.C.; McGrath, S.P. Effects of metal toxicity on the size of the soil microbial biomass. **J. Soil Sci.**, 35:341-346, 1984.

Cerdeira, A.; Gazziero, D.; Duke, S.; Matallo, M.; Spadotto, C. Review of potential environmental impacts of transgenic glyphosate-resistant soybean in Brazil. **J. Environ. Sci. Health Part B-Pestic. Contam. Agric. Wastes**, 42, 539-549, 2007.

Franchini, J.C.; Crispino, C.C.; Souza, R.A.; Torres, E.; Hungria, M. Microbiological parameters as indicators of soil quality under various soil management and crop rotation systems in Southern Brazil. **Soil Tillage Res.**, 92:18-29, 2007.

James, C. A global overview of biotech (GM) Crops: Adoption, impact and future prospects. **GM Crops**, 1:8-12, 2010.

Jenkinson, D.S.; Powlson, D.S. The effects of biocide treatment on metabolism in soil. V. A method for measuring soil biomass. **Soil Biol. Biochem.**, 8:209-213, 1976.

Pereira, J.L.; Picanço, M.C.; Silva, A.A.; Santos, E.A.; Tomé, H.V.V.; Olarte, J.B. Effects of glyphosate and endosulfan on soil microorganisms in soybean crop. **Planta Daninha**, 26: 825-830, 2008.

Souza, R.A., Hungria, M., Franchini, J.C., Maciel, C.D., Campo, R.J., Zaia, D.A.M. Conjunto mínimo de parâmetros para avaliação da microbiota do solo e da fixação biológica do nitrogênio pela soja. **Pesqui. Agropecu. Bras.** 43, 83–91, 2008a

Souza, R.A., Hungria, M., Franchini, J.C., Chueire, L.M.O., Barcellos, F.G., Campo, R.J. Avaliação qualitativa e quantitativa da microbiota do solo e da fixação biológica do nitrogênio pela soja. **Pesqui. Agropecu. Bras.** 43, 71–82, 2008b

Steell, R.G.D.; Torrie, J.H. **Principles and Procedures of Statistics with special reference to the biological sciences.** New York. 481p, 1960.

Zilli, J.E.; Botelho, G.R.; Neves, M.C.P.; Rumjanek, N.G. Efeito de glyphosate e imazaquin na comunidade bacteriana do rizoplane de soja (*Glycine max* (L.) Merrill) e em características microbiológicas do solo. **R. Bras. Cienc. Solo**, 32: 633-642, 2008.

Wardle, D.A.; Hungria, M. A biomassa microbiana do solo e sua importância nos ecossistemas terrestres. In: Araújo, R.S.; Hungria, M., eds. **Microrganismos de importância agrícola.** Brasília: EMBRAPA-SPI, 1994. p.195-216.

TABELA 1. Efeito de cultivares transgênicos de tolerância a glifosato e da aplicação de herbicidas no C da biomassa microbiana do solo ($\mu\text{g C g solo seco}^{-1}$). Ensaios conduzidos em seis locais no Brasil, safra 2005/2006¹.

Cultivar ²	Herbicida	Londrina	Ponta Grossa	Passo Fundo	Uberaba	Planaltina	Luiz E. Magalhães
V1 transgênico	Glifosato	245,59 ab	182,51 ab	401,01 ab	109,95 d	288,41	216,37 abcd
V1 transgênico	Convencional	257,99 ab	169,09 abc	418,69 ab	101,14 d	280,57	211,27 abcd
V1 não transgênico	Convencional	279,43 ab	165,87 abc	444,04 a	111,17 d	272,92	248,39 a
V1 transgênico	Capina	204,40 ab	146,88 bcd	392,11 ab	104,54 d	209,22	238,56 ab
V1 não transgênico	Capina	214,03 ab	139,47 bcd	358,73 ab	110,44 d	268,35	184,79 abcde
V2 transgênico	Glifosato	269,03 ab	147,07 bcd	292,63 bc	265,93 b	213,08	236,13 ab
V2 transgênico	Convencional	180,68 b	143,43 bcd	188,56 c	406,62 a	176,95	177,83 abcde
V2 não transgênico	Convencional	235,75 ab	153,89 bcd	148,65 c	212,37 c	213,26	141,64 bcde
V2 transgênico	Capina	246,16 ab	216,47 a	148,74 c	101,53 d	233,57	120,12 de
V2 não transgênico	Capina	250,03 ab	167,12 abc	170,28 c	103,42 d	261,30	163,76 abcde
V3 transgênico	Glifosato	309,09 ab	154,94 bcd	202,94 c	116,53 d	257,10	254,10 a
V3 transgênico	Convencional	282,65 ab	132,72 bcd	167,06 c	103,30 d	231,18	224,77 abc
V3 não transgênico	Convencional	355,86 a	125,13 bcd	209,73 c	80,49 d	260,38	197,26 abcd
V3 transgênico	Capina	316,02 ab	113,46 cd	207,76 c	99,34 d	213,03	101,69 e
V3 não transgênico	Capina	185,08 b	99,41 d	276,74 bc	113,61 d	162,56	134,78 cde
CV(%)		46,94	28,09	41,08	23,94	29,40	36,48
<i>p</i>		0,0225	0,0041	<0,0001	<0,0001	0,0693	0,0142

¹Valores seguidos das mesmas letras, nas colunas, não diferem estatisticamente (Duncan, $p \leq 0,05$).

² Londrina, Ponta Grossa e Passo Fundo: V1=BRS133/BRS245RR; V2=Embrapa 58/BRS242RR; V3=Embrapa 59/BRS244RR. Uberaba, Planaltina e Luiz Eduardo Magalhães: V1= Celeste/BalizaRR; V2=Conquista/ConquistaRR; V3=Jataí/SilvâniaRR; *p* = probabilidade

TABELA 2. Efeito de cultivares transgênicos de tolerância a glifosato e da aplicação de herbicidas no N da biomassa microbiana do solo ($\mu\text{g N g solo seco}^{-1}$). Ensaios conduzidos em seis locais no Brasil, safra 2005/2006¹.

Cultivar ²	Herbicida	Londrina	Ponta Grossa	Passo Fundo	Uberaba	Planaltina	Luiz E. Magalhães
V1 transgênico	Glifosato	20,48 def	12,88 de	4,97 g	6,01 bc	27,65 d	6,25 f
V1 transgênico	Convencional	16,30 f	12,43 e	5,38 fg	6,77 bc	27,90 d	7,30 ef
V1 não transgênico	Convencional	18,47 ef	21,51 abc	7,31 efg	8,20 abc	29,99 cd	9,72 def
V1 transgênico	Capina	17,69 ef	20,62 abc	6,36 efg	12,62 a	29,50 cd	7,56 ef
V1 não transgênico	Capina	16,10 f	16,24 cde	5,98 efg	8,97 ab	31,20 cd	7,25 ef
V2 transgênico	Glifosato	27,63 abcd	21,69 abc	15,57 cd	5,96 bc	35,10 bcd	20,77 abc
V2 transgênico	Convencional	26,18 bcde	20,83 abc	11,41 def	6,44 bc	42,54 a	28,70 a
V2 não transgênico	Convencional	26,12 bcde	17,31 cde	12,33de	7,02 bc	41,37 ab	12,78 cdef
V2 transgênico	Capina	28,65 abcd	17,40 cde	11,75 def	3,66 c	32,58 cd	17,22 bcd
V2 não transgênico	Capina	25,54 bcde	15,89 cde	15,82 cd	7,04 bc	34,58 bcd	22,03 ab
V3 transgênico	Glifosato	33,83 ab	19,47 abc	17,69 bcd	6,13 bc	36,60 abc	20,82 abc
V3 transgênico	Convencional	31,90 abc	18,47 bcd	23,24 ab	9,46 ab	32,94 cd	16,03 bcde
V3 não transgênico	Convencional	35,94 a	23,49 ab	28,75 a	5,89 bc	31,07 cd	8,92 def
V3 transgênico	Capina	24,52 cdef	17,89 bcde	19,67 bc	5,79 bc	33,64 cd	13,46 cdef
V3 não transgênico	Capina	30,72 abc	24,52 a	20,61 bc	11,84 a	31,30 cd	10,97 def
CV(%)		26,55	23,17	35,46	47,32	17,35	45,93
<i>p</i>		<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,0168	0,0006	<0,0001

¹Valores seguidos das mesmas letras, nas colunas, não diferem estatisticamente (Duncan, $p \leq 0,05$).

² Londrina, Ponta Grossa e Passo Fundo: V1=BRS133/BRS245RR; V2=Embrapa 58/BRS242RR; V3=Embrapa 59/BRS244RR. Uberaba, Planaltina e Luiz Eduardo Magalhães: V1= Celeste/BalizaRR; V2=Conquista/ConquistaRR; V3=Jataí/SilvâniaRR; *p* = probabilidade

TABELA 3. Análise de contrastes entre tratamentos. Efeito de cultivares transgênicos de tolerância a glifosato e da aplicação de herbicidas no carbono da biomassa microbiana do solo ($\mu\text{g C g solo seco}^{-1}$). Ensaios conduzidos em seis locais no Brasil, safra 2005/2006.

Contraste	Londrina	Ponta Grossa	Passo Fundo	Uberaba	Planaltina	Luiz E. Magalhães
Transgênico X Não transgênico (tratamentos com herbicida convencional e capina)						
Transgênico	248,00	153,68	253,82	152,75	224,09	179,04
Não transgênico	253,37	141,82	268,03	121,92	239,80	178,44
<i>p</i> [†]	ns	ns	ns	**	ns	ns
Transgênico com herbicida convencional X Transgênico com glifosato						
Trans herbicida convencional	240,47	148,41	258,10	203,69	229,57	204,62
Trans glifosato	274,57	161,51	298,86	164,14	252,86	235,53
<i>p</i> [†]	ns	ns	ns	**	ns	ns
Não transgênico com herbicida convencional X Transgênico com glifosato						
Não trans c/herb. convencional	290,37	148,30	267,47	134,68	248,85	195,76
Transgênico c/ glifosato	274,57	161,51	298,86	164,14	252,86	235,53
<i>p</i> [†]	ns	ns	ns	**	ns	ns

* $p < 0,10$; ** $p < 0,05$; *p* = probabilidade [†] Teste t de Student.

TABELA 4. Análise de contrastes entre tratamentos. Efeito de cultivares transgênicos de tolerância a glifosato e da aplicação de herbicidas no nitrogênio da biomassa microbiana do solo ($\mu\text{g N g solo seco}^{-1}$). Ensaios conduzidos em seis locais no Brasil, safra 2005/2006.

Contraste	Londrina	Ponta Grossa	Passo Fundo	Uberaba	Planaltina	Luiz E. Magalhães
Transgênico X Não transgênico (tratamentos com herbicida convencional e capina)						
Transgênico	24,21	17,94	12,97	7,46	33,18	15,05
Não transgênico	25,48	19,83	15,13	8,16	33,25	11,95
<i>p</i> [†]	ns	*	ns	ns	ns	*
Transgênico com herbicida convencional X Transgênico com glifosato						
Trans herbicida convencional	24,79	17,24	13,34	7,55	34,46	17,35
Trans glifosato	27,31	18,01	12,74	6,03	33,12	15,95
<i>p</i> [†]	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Não transgênico com herbicida convencional X Transgênico com glifosato						
Não trans c/herb. convencional	26,84	20,77	16,13	7,04	34,14	10,47
Transgênico c/ glifosato	27,31	18,01	12,74	6,03	33,12	15,95
<i>p</i> [†]	ns	*	*	ns	ns	**

* $p < 0,10$; ** $p < 0,05$; *p* = probabilidade [†] Teste t de Student.