

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE AGRONOMIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DO SOLO

**ÍNDICES DE QUALIDADE DO SOLO EM SISTEMAS DE PRODUÇÃO  
DE ARROZ IRRIGADO**

**FILIPPE SELAU CARLOS**  
**(Tese de doutorado)**

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE AGRONOMIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DO SOLO

**ÍNDICES DE QUALIDADE DO SOLO EM SISTEMAS DE PRODUÇÃO  
DE ARROZ IRRIGADO**

FILIPPE SELAU CARLOS  
Mestre em Ciência do Solo (UFRGS)  
Engenheiro Agrônomo (UFRGS)  
Engenheiro Agrícola (Ulbra)

Tese apresentada como  
um dos requisitos à obtenção do  
Grau de Doutor em Ciência do Solo

Porto Alegre (RS) Brasil  
Outubro de 2017

## CIP - Catalogação na Publicação

Carlos, Filipe Selau

Índices de qualidade do solo em sistemas de produção de arroz irrigado / Filipe Selau Carlos. -- 2017.

166 f.

Orientador: Flávio Anastácio de Oliveira Camargo.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Agronomia, Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, Porto Alegre, BR-RS, 2017.

1. Oryza sativa. 2. Práticas conservacionistas .  
3. Terras baixas. I. Camargo, Flávio Anastácio de Oliveira, orient. II. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

FILIPPE SELAU CARLOS

## **ÍNDICES DE QUALIDADE DO SOLO EM SISTEMAS DE PRODUÇÃO DE ARROZ IRRIGADO**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo da Faculdade de Agronomia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito para a obtenção do título de Doutor em Ciência do Solo.

Aprovada em 30 de outubro de 2017  
Homologada em 20 de novembro de 2017

**BANCA EXAMINADORA:**

Prof. Pedro Alberto Selbach  
UFRGS

Prof. Enilson Luiz Saccol de Sá  
UFRGS

Prof. Leandro Souza da Silva  
UFSM

Orientador - Prof. Flávio Anastácio de Oliveira Camargo  
UFRGS

Este trabalho eu dedico aos meus pais, João Carlos (*in memorian*) e  
Sandramara Selau Carlos.  
Aos meus irmãos Viviane, Diego e Liliani.

## **AGRADECIMENTOS**

Ao orientador Flávio Anastácio de Oliveira Camargo pela orientação, confiança e amizade desde os primeiros trabalhos realizados na UTRESA e por ter aceito a transição da temática da tese, assim que assumi meu posto no IRGA.

Ao PPG Ciência do Solo, por todo suporte, em geral aos professores que contribuíram na minha formação intelectual e aos funcionários Adão Luis, que guiou os meus primeiros passos no DS, e ao Jader, por toda a sua atenção.

Ao co-orientador Luiz Fernando Roesch por ter aberto as portas Unipampa e nos auxiliar em um mundo novo na área de pesquisa em solos.

Aos colegas da pós graduação em especial Naihana Schaffer, Roberta Mariot e Leonardo Capeleto de Andrade.

Aos professores Ibanor Anghinoni, Cimelio Bayer, Paulo Regis Ferreira da Silva, Enilson Saccol de Sá por suas contribuições e sugestões nesta tese.

Aos bolsistas de iniciação científica Rodrigo Schimitt Fernandes, Tiana Neis, Iuri Rossi e Marina Buchain pelo empenho, dedicação e amizade.

Ao Instituto Rio Grandense do Arroz que propiciou minha formação, possibilitou meu período sanduiche e aportou recursos financeiros ao meu projeto de tese. Em especial a equipe do laboratório de solos, água e tecido vegetal da EEA-IRGA Cachoeirinha-RS, Gisele, Bruno e Thais. Aos técnicos do IRGA Tiago Cereza e Elvis Weber que colaboraram para condução dos experimentos.

Aos colegas do IRGA Elio Marcolin, Francisco Morais, Rafael Nunes, Darci Uhry, Alencar Zanon, André Ulguim, Claudio Ogoshi, Pablo Badinelli, Danielle Almeida, Flavia Tomita, Gustavo Soares e Fernando Miranda pela amizade e companheirismo.

Ao IRRI, na pessoa do pesquisador Ricardo Oliva, Veronica Reyna e Abdel Ismail por terem me acolhido no período do sanduíche.

# ÍNDICES DE QUALIDADE DO SOLO EM SISTEMAS DE PRODUÇÃO DE ARROZ IRRIGADO<sup>1</sup>

Autor: Filipe Selau Carlos

Orientador: Flávio Anastácio de Oliveira Camargo

## RESUMO

O manejo do solo, a rotação de culturas, uso de coberturas de solo e os sistemas integrados de produção agropecuária são práticas agronômicas que modificam os fluxos de carbono, energia e nutrientes no solo. Essas mudanças impactam diretamente na biomassa microbiana, na atividade de enzimas extracelulares e na diversidade microbiana no solo. Assim, o objetivo dessa tese foi avaliar as características microbianas, estoques de carbono e nitrogênio, propriedades físicas e disponibilidade de nutrientes de experimentos de média e longa duração sob semeadura direta, culturas de cobertura, rotação de culturas e integração lavoura-pecuária em ambientes de terras baixas cultivados com arroz irrigado. A semeadura direta por longo prazo refletiu no aumento da atividade de enzimas extracelulares e do carbono orgânico total e particulado em superfície; porém com redução da diversidade da comunidade microbiana do solo. A semeadura direta também aumentou em 37% e 12% os estoques de carbono comparado ao sistema convencional e pré germinado, respectivamente. Contudo, a mudança desses atributos de solo sob semeadura direta não se refletiu em aumento da produtividade de arroz. A adoção dos sistemas integrados de produção agropecuária aumentou significativamente os principais macronutrientes na solução do solo cultivado com arroz irrigado. A rotação com soja também contribuiu para o aumento da atividade de enzimas extracelulares, disponibilidade de nitrogênio e produtividade de matéria seca de azevém 187% superior comparado à cultura do arroz. A adoção das culturas de cobertura resultou em maior atividade microbiana do solo associado aos maiores estoques de carbono e nitrogênio que propiciaram maior produtividade de arroz irrigado comparado as áreas sem coberturas de solo e sem fertilização. Dessa forma, esse trabalho demonstra a importância da adoção de práticas conservacionistas de manejo do solo para a melhoria da qualidade do solo em ambientes de terras baixas do Rio Grande do Sul.

---

<sup>1</sup> Tese de Doutorado em Ciência do Solo. Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre (150 p.). Outubro, 2017. Trabalho realizado com apoio financeiro do CNPq, CAPES e IRGA.

## **SOIL QUALITY INDEX IN IRRIGATED RICE PRODUCTION SYSTEMS<sup>2</sup>**

Author: Filipe Selau Carlos

Adviser: Flávio Anastácio de Oliveira Camargo

### **ABSTRACT**

Soil management, crop rotation, use of soil cover and integrated agricultural production systems are agronomic practices that modify the fluxes of carbon, energy and nutrients in the soil. These changes directly impact the microbial biomass, the activity of extracellular enzymes and the microbial diversity in the soil. The objective of this thesis was to evaluate the microbial characteristics, carbon and nitrogen stocks, physical properties and nutrient availability of medium and long term experiments under no-tillage, cover crops, crop rotation and crop-livestock integration in lowland where the main crop is irrigated rice. Long - term no - tillage reflected on the increase of the activity of extracellular enzymes and of particulate organic carbon on the surface, but with a reduction in the diversity of the soil microbial community. No-till also increased by 37% and 12% the carbon stocks compared to the conventional and pre-germinated system, respectively. However, improved soil quality under no-tillage was not reflected in increased rice yield. The adoption of integrated agricultural production systems significantly increased the main macronutrients in soil solution cultivated with irrigated rice. Crop rotation and the use of autumn-winter cover also contributed to the increase of extracellular enzyme activity in the soil. The increased microbial activity of the soil under rotation with soybean resulted in a ryegrass yield of about 187% higher compared to the rice crop. In the case of cover crops, the greater soil microbial activity associated with higher carbon and nitrogen stocks provided higher yield of irrigated rice compared to areas without soil cover. Thus, this work demonstrates the importance of the adoption of conservation practices of soil management for the improvement of soil quality and production sustainability in lowland environments in Rio Grande do Sul.

---

<sup>2</sup> D.Sc. Thesis in Soil Science – Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre (150 p.). October, 2017. Research supported by CNPq, CAPES and IRGA.



## SUMÁRIO

	Pág.
<b>1 INTRODUÇÃO GERAL .....</b>	<b>1</b>
<b>2 CAPÍTULO I – ESTADO ATUAL DO CONHECIMENTO .....</b>	<b>3</b>
2.1 Solos de terras baixas .....	3
2.1.1 Manejo dos solos de terras baixas no Rio Grande do Sul .....	4
2.2 Indicadores de avaliação da qualidade do solo .....	7
2.2.1 Qualidade do solo.....	7
2.2.2 Biomassa microbiana do solo.....	8
2.2.3 Diversidade microbiana do solo.....	10
2.2.4 Atividade enzimática do solo .....	11
2.2.5 Estoques de carbono e nitrogênio .....	14
2.2.6 Disponibilidade de nutrientes .....	15
<b>3 CAPÍTULO II – STUDY 1: INCREASED ENZYMATIC ACTIVITY AND DECREASED MICROBIAL DIVERSITY OF RICE PADDY UNDER A LONG-TERM, NO-TILLAGE SOIL MANAGEMENT SYSTEM.....</b>	<b>16</b>
3.1 Abstract.....	16
3.2 Introduction.....	17
3.3 Materials and methods .....	19
3.3.1 Field experiment.....	19
3.3.2 Treatments.....	19
3.3.3 Irrigated rice management.....	20
3.3.4 Sampling and analyses .....	20
3.3.5 Microbial carbon and nitrogen .....	21
3.3.6 Basal respiration.....	21
3.3.7 Fluorescein diacetate (FDA) hydrolysis determination .....	21
3.3.8 Acid phosphatase determination .....	22
3.3.9 Urease determination .....	22

3.3.10 $\beta$ -glucosidase determination .....	22
3.3.11 Soil physics.....	23
3.3.12 Soil carbon and nitrogen .....	23
3.3.13 Microbiome.....	23
3.3.14 Sequence processing for downstream analyses and statistical analysis.....	24
3.4 Results.....	25
3.4.1 Microbial biomass carbon (MBC), microbial biomass nitrogen (MBN), and basal respiration.....	25
3.4.2 Extracellular enzymes .....	25
3.4.3 Physical attributes of the soil .....	28
3.4.4 Soil bacterial composition and diversity .....	28
3.5 Discussion.....	32
3.6 Conclusions.....	35
<b>4 CAPÍTULO 3 – ESTUDO 2: ESTOQUES DE CARBONO, NITROGÊNIO E PRODUTIVIDADE DE ARROZ IRRIGADO SOB DIFERENTES MANEJOS DO SOLO POR LONGO PRAZO .....</b>	<b>36</b>
4.1 Resumo.....	36
4.2 Introdução.....	37
4.3 Material e métodos .....	39
4.3.1 Condições experimentais .....	39
4.3.2 Adição de resíduos.....	40
4.3.3 Amostragem do solo e estoques totais de C e N .....	41
4.3.4 Os estoques de carbono e nitrogênio, fracionamento físico e índice de manejo de carbono.....	41
4.3.5 Manejo do arroz irrigado.....	43
4.3.6 Análises estatísticas .....	44
4.4 Resultados e discussão.....	45
4.4.1 Adições de carbono e nitrogênio .....	45
4.4.2 Estoques totais e frações de carbono e nitrogênio.....	48
4.4.3 Distribuição de carbono e nitrogênio no perfil do solo .....	51
4.4.4 Índice de manejo de carbono .....	55
4.4.5 Evolução da produtividade de arroz irrigado .....	57
4.5 Conclusões.....	59

<b>5</b>	<b>CAPÍTULO 4 – ESTUDO 3: A CONTRIBUIÇÃO DA INTEGRAÇÃO ARROZ IRRIGADO E PECUÁRIA DE CORTE NA DISPONIBILIDADE DE NUTRIENTES E ATIVIDADE ENZIMÁTICA DO SOLO</b>	<b>61</b>
5.1	Resumo	61
5.2	Introdução	62
5.3	Material e métodos	65
5.3.1	Histórico da área, tratamentos e manejo do solo, das espécies cultivadas e dos animais	65
5.3.2	Amostragem de solução do solo e determinação de nutrientes na solução de solo alagado	68
5.3.3	Amostragem de solo	69
5.3.4	Determinação da atividade de enzimas extracelulares no solo	69
5.3.5	Análise estatística	69
5.4	Resultados	70
5.4.1	Amônio e nitrato na solução do solo	70
5.4.2	Fósforo e potássio na solução do solo	70
5.4.1	Cálcio e magnésio na solução do solo	71
5.4.1	Atividade de enzimas extracelulares do solo	74
5.5	Discussão	74
5.5.1	Pastagens no outono-inverno	75
5.5.2	Efeito do pastejo	79
5.5.3	Efeito da semeadura direta	81
5.5.4	Rotação de culturas	81
5.5.5	Enzimas extracelulares	82
5.6	Conclusões	83
<b>6</b>	<b>CAPÍTULO 5 – ESTUDO 4: CULTURAS DE COBERTURA EM SOLOS CULTIVADOS COM ARROZ IRRIGADO POR LONGO PRAZO: ESTOQUES DE CARBONO, NITROGÊNIO, ATIVIDADE ENZIMÁTICA E PRODUTIVIDADE</b>	<b>85</b>
6.1	Resumo	85
6.2	Introdução	86
6.3	Material e métodos	89
6.3.1	Local	89
6.3.2	Tratamentos e delineamento experimental	89
6.3.3	Manejo do arroz irrigado	90
6.3.4	Avaliação de enzimas extracelulares	90

6.3.5 Teores totais de carbono e nitrogênio no solo.....	90
6.3.6 Produtividade de grãos de arroz irrigado.....	91
6.3.7 Aporte de carbono ao solo pelas coberturas .....	91
6.3.8 Análise estatística.....	92
6.4 Resultados.....	92
6.4.1 Atividade microbiana do solo.....	92
6.4.2 Aporte de resíduos .....	93
6.4.3 Teores e estoques de carbono e nitrogênio no solo.....	95
6.4.4 Produtividade de grãos de arroz irrigado.....	98
6.4.5 Correlação de variáveis.....	98
6.4.6 Análise multivariada .....	98
6.5 Discussão.....	101
6.5.1 Atividade enzimática.....	101
6.5.2 Estoques de carbono e nitrogênio.....	102
6.5.3 Produtividade de grãos de arroz irrigado.....	103
6.6 Conclusões.....	105
<b>7 CAPÍTULO 6 – ESTUDO 5: ROTAÇÃO DE ARROZ IRRIGADO E SOJA: NITROGÊNIO MINERAL, ATIVIDADE ENZIMÁTICA, COMUNIDADE MICROBIANA DO SOLO E DESENVOLVIMENTO DE AZEVÉM.....</b>	<b>106</b>
7.1 Resumo.....	106
7.2 Introdução.....	107
7.3 Material e métodos .....	109
7.3.1 Experimento.....	109
7.3.2 Atividade enzimática e N mineral .....	110
7.3.3 Desenvolvimento de Azevém ( <i>Lolium multiflorum</i> ).....	110
7.3.4 Microbioma.....	110
7.3.5 Processamento de sequências e análises estatísticas.....	110
7.4 Resultados.....	111
7.4.1 Nitrogênio mineral no solo .....	111
7.4.2 Atividade enzimática.....	111
7.4.3 Diversidade microbiana .....	115
7.4.4 Desenvolvimento de azevém .....	118
7.5 Discussão.....	119
7.5.1 Resíduos vegetais .....	119
7.5.2 Atividade enzimática.....	121

7.5.3 Desenvolvimento de biomassa de azevém .....	122
7.5.4 Diversidade microbiana .....	123
7.6 Conclusões.....	126
<b>8 CONCLUSÕES GERAIS .....</b>	<b>127</b>
<b>9 PERSPECTIVAS FUTURAS DE PESQUISA .....</b>	<b>129</b>
<b>10 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>130</b>
<b>11 RESUMO BIOGRÁFICO.....</b>	<b>150</b>

## RELAÇÃO DE TABELAS

<b>Table 1.</b> Simple correlations (r) between properties of soil under different management systems: no-till, pre-germinated and conventional tillage.....	32
<b>Tabela 2.</b> Caracterização química do protocolo experimental em 2005. ....	40
<b>Tabela 3.</b> Densidade do solo sob diferentes manejos e ecossistemas de referência (pastagem nativa e floresta nativa), Setembro de 2014, Cachoeirinha, Brasil. ....	42
<b>Tabela 4.</b> Cultivares e quantidade de N, P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> e K <sub>2</sub> O utilizados anualmente no experimento desde o ano agrícola 1994/95. ....	44
<b>Tabela 5.</b> Taxas de adição de carbono em um Gleissolo Háplico cultivado com arroz irrigado sob diferentes manejos do solo por longo prazo. SD: semeadura direta, PG: pré germinado e PC: preparo convencional. Cachoeirinha-RS, Brasil. ....	47
<b>Tabela 6.</b> Tratamentos <sup>1</sup> utilizados no experimento conforme os anos agrícolas e épocas do ano. ....	67
<b>Tabela 7.</b> Detalhamento das adubações realizadas nos tratamentos de 2013 a 2016. ....	68
<b>Tabela 8.</b> Densidade do solo sob diferentes culturas de cobertura de solo. Para determinação do estoque de carbono nos cinco tratamentos que foram conduzidos sob semeadura direta, foram utilizados os valores de densidade da coluna SD e para o tratamento conduzido sob preparo convencional utilizou-se os valores da coluna PC. ....	91
<b>Tabela 9.</b> Adição de carbono ao solo pela parte aérea e pelas raízes de arroz irrigado e pelas espécies de cobertura de solo na média dos anos agrícolas 2014/15 e 2015/16. Cachoeirinha. ....	95
<b>Tabela 10.</b> Correlações simples (r) entre propriedades bioquímicas do solo, estoques de carbono e nitrogênio, produtividade de grãos de arroz irrigado e aporte de resíduos vegetais pelas culturas de cobertura em experimento de longo prazo. Cachoeirinha, 2016. ....	100
<b>Tabela 11.</b> Coeficientes de correlação (r) entre atributos do solo, adição de carbono, produtividade de arroz irrigado e fatores de escala multidimensional não métrica. Cachoeirinha, 2016. ....	100
<b>Tabela 12.</b> Correlação simples (r) entre os atributos microbiológicos de um Gleissolo Háplico sob rotação de arroz irrigado e soja. ....	118

## RELAÇÃO DE FIGURAS

- Figure 1.** Microbial biomass carbon (MBC) and microbial biomass nitrogen (MBN) (a) and basal respiration (b) evaluated in a Entisol under different management systems: no tillage (NT), pre germinated (PG) and conventional tillage (CT). The carbon concentration (MBC) and nitrogen (MBN) were obtained from the arithmetic mean of three samples taken in September 2014, April 2015 and September 2015. Vertical bars indicate least significant difference (Lsd). Different letters indicate a significant difference at  $P < 0.05$ . .....26
- Figure 2.** Activity of  $\beta$ -Glucosidase (a), fluorescein diacetate (FDA) (b), acid phosphatase (c) and urease (d) in a Entisol under different management systems. (●) no tillage, (▼) pre germinated and (■) conventional tillage. Assessments in September 2014, April 2015, September 2015, January 2016 and March 2016. Vertical bars indicate least significant difference (Lsd). Tukey test ( $p < 0.05$ ). .....27
- Figure 3.** Bulk density (a), macroporosity (b), microporosity (c) and total porosity (d) of soil under (●) no tillage, (▼) pre germinated and (■) conventional tillage cultivated with rice for long term. Tukey ( $p < 0.05$ ). .....28
- Figure 4.** Impact of long-term different soil management systems on the bacterial community of Entisol cultivated with rice. Relative abundance of the dominant phyla. No tillage, pre-germinated and conventional tillage in Entisol under long-term rice cultivation. ....30
- Figure 5.** Diversity of soil species by Alpha and Shannon indexes. Classes of different soil management practices. No tillage, conventional tillage and pregerminated in Entisol under rice cultivation for long term. Vertical bars indicate standard deviation.....30
- Figure 6.** Alpha diversity of soil species in classes of different levels of total organic carbon in Entisol under long-term rice cultivation. Vertical bars indicate standard deviation.....31
- Figure 7.** PcoA in Entisol under no tillage, pre germinated and conventional tillage cultivated with irrigated rice for long-term. ....31
- Figura 8.** Estoques de carbono total (CT), carbono orgânico particulado (COP) e carbono associado aos minerais (CAM) nas camadas de solo de 0 a 20 cm (a) e de 0 a 40 cm (b) em um Gleissolo Háplico cultivado com arroz irrigado sob diferentes manejos do solo, em experimento de longo prazo, Cachoeirinha, Brasil, abril de 2015. SD: semeadura direta, PC: preparo convencional, PG: pré-germinado, PN: pastagem nativa e FN: floresta nativa. As colunas com a mesma letra não diferem pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). .....50
- Figura 9.** Estoques de nitrogênio total (NT), nitrogênio orgânico particulado (NOP) e nitrogênio associado aos minerais (NAM) nas camadas de solo de 0 a

20 cm (a) e de 0 a 40 cm (b) em um Gleissolo Háplico cultivado com arroz irrigado sob diferentes manejo do solo, em experimento de longo prazo, Cachoeirinha, Brasil, abril de 2015. SD: semeadura direta, PC: preparo convencional, PG: pré-germinado, PN: pastagem nativa e FN: floresta nativa. As colunas com a mesma letra não diferem pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). .....52

**Figura 10.** Carbono orgânico total (a), carbono associado aos minerais (b) e carbono orgânico particulado (c) no perfil do solo de um Gleissolo Háplico cultivado com arroz irrigado sob diferentes manejos de solo por longo prazo. Cachoeirinha, Brasil, 2015. SD: semeadura direta, PC: preparo convencional, PG: pré-germinado, PN: pastagem nativa e FN: floresta nativa. Barras horizontais comparam diferentes manejos de solo para cada camada de solo pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). .....53

**Figura 11.** Nitrogênio total (a), nitrogênio associado aos minerais (b) e nitrogênio orgânico particulado (c) no perfil do solo de um Gleissolo Háplico cultivado com arroz irrigado sob diferentes manejos de solo por longo prazo. Cachoeirinha, Brasil, 2015. SD: semeadura direta, PC: preparo convencional, PG: pré-germinado, PN: pastagem nativa e FN: floresta nativa. Barras horizontais comparam diferentes manejos de solo para cada camada de solo pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). .....54

**Figura 12.** Labilidade do carbono (a) e índice de manejo de carbono (b) no perfil do solo de um Gleissolo Háplico cultivado com arroz irrigado sob diferentes manejos do solo, em um experimento de longo prazo. Cachoeirinha, Brasil, 2015. SD: semeadura direta, PC: preparo convencional, PG: pre-germinado, PN: pastagem nativa e FN: floresta nativa. Barras horizontais comparam diferentes manejos de solo para cada camada de solo pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). ....56

**Figura 13.** Produtividade de arroz irrigado do ano agrícola de 1994/95 a 2016/17 sob diferentes sistemas de manejo de solo. Preparo convencional (●), semeadura direta (○) e Pré-germinado (▼). Teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). .....58

**Figura 14.** Teores de amônio (a, b e c) e nitrato (d, e e f) na solução de um a Planossolo conduzido sob a diferentes sistemas de integração arroz pecuária de corte, nos anos agrícolas 2014/15, 2015/16 e 2016/17. T1: arroz contínuo com pousio no inverno, T2: arroz contínuo com pastejo sobre azevém no inverno, T3: rotação arroz/soja com pastejo sobre azevém no inverno, T4: rotação arroz/soja/milho com pastejo sobre azevém e trevo branco no inverno e T5: arroz cultivado em sucessão a três anos de azevém, cornichão e trevo branco no inverno e campo de sucessão no verão. Teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). ns: não diferiu estatisticamente. Barras verticais incidam o desvio padrão. ....72

**Figura 15.** Teores de fósforo (a, b e c) e potássio (d, e e f) na solução de um a Planossolo conduzido sob a diferentes sistemas de integração arroz pecuária de corte, nos anos agrícolas 2014/15, 2015/16 e 2016/17. T1: arroz contínuo com pousio no inverno, T2: arroz contínuo com pastejo sobre azevém no inverno, T3: rotação arroz/soja com pastejo sobre azevém no inverno, T4: rotação arroz/soja/milho com pastejo sobre azevém e trevo branco no inverno e T5: arroz cultivado em sucessão a três anos de azevém, cornichão e trevo branco no inverno e campo de sucessão no verão. Teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). Barras verticais incidam o desvio padrão. ....73



**Figura 16.** Teores de cálcio (a, b e c) e magnésio (d, e e f) na solução de um a Planossolo conduzido sob a diferentes sistemas de integração arroz pecuária de corte, nos anos agrícolas 2014/15, 2015/16 e 2016/17. T1: arroz contínuo com pousio no inverno, T2: arroz contínuo com pastejo sobre azevém no inverno, T3: rotação arroz/soja com pastejo sobre azevém no inverno, T4: rotação arroz/soja/milho com pastejo sobre azevém e trevo branco no inverno e T5: arroz cultivado em sucessão a três anos de azevém, cornichão e trevo branco no inverno e campo de sucessão no verão. Teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). Barras verticais incidam o desvio padrão. ....77

**Figura 17.** Atividade da fosfatase ácida (a), urease (b), fluoresceína diacetato (c) e  $\beta$ -glucosidase (d) e em diferentes sistemas de integração arroz pecuária de corte. T1: arroz contínuo com pousio no inverno, T2: arroz contínuo com pastejo sobre azevém no inverno, T3: rotação arroz/soja com pastejo sobre azevém no inverno, T4: rotação arroz/soja/milho com pastejo sobre azevém e trevo branco no inverno e T5: arroz cultivado em sucessão a três anos de azevém, cornichão e trevo branco no inverno e campo de sucessão no verão. Teste de Tukey ( $p < 0,05$ ) e \* indica diferença entre o solo coletado sob condição natural e o sob placas de esterco. ....78

**Figura 18.** Atividade da  $\beta$ -glucosidase (a), da urease (b) e da fluoresceína diacetato (FDA) (c) de um Gleissolo Háplico cultivado a 20 anos com arroz irrigado sob diferentes culturas de cobertura. Cachoeirinha, 18 anos de condução. Barras verticais indicam o desvio padrão. Tukey ( $p < 0,05$ ), ns: não diferiu estatisticamente. ....94

**Figura 19.** Teores de carbono orgânico total (a) e nitrogênio total (b) de um Gleissolo Háplico, estratificado na camada de 0-40 cm, cultivado sob diferentes culturas de cobertura no outono-inverno. Barras horizontais indicam a diferença mínima significativa. Azevém (*Lolium multiflorum*), aveia (*Avena strigosa*), serradela (*Ornithopus micranthus*), cornichão (*Lotus corniculatus*). Cachoeirinha, 2016. Tukey ( $p < 0,05$ ). ....96

**Figura 20.** Estoques de carbono (a) e nitrogênio (b) nas camadas de solo de 0-20 e 20-40 cm sob cultivo de diferentes culturas de cobertura de outono-inverno em áreas cultivadas com arroz irrigado por longo prazo. Azevém (*Lolium multiflorum*), aveia (*Avena strigosa*), serradela (*Ornithopus micranthus*), cornichão (*Lotus corniculatus*). Cachoeirinha, 2016. Tukey ( $p < 0,05$ ). ....97

**Figura 21.** Produtividade de arroz irrigado cultivado em sucessão a diferentes culturas de cobertura no período de outono-inverno, com e sem fertilização no ciclo do arroz irrigado nos anos agrícolas 2015/16 (a) e 2014/15 (b). Cachoeirinha. Barras verticais indicam o desvio padrão. Azevém (*Lolium multiflorum*), aveia (*Avena strigosa*), serradela (*Ornithopus micranthus*), cornichão (*Lotus corniculatus*). Tukey ( $p < 0,05$ ). ....99

**Figura 22.** Análise de componentes principais. FDA: fluoresceína diacetato, C\_p aérea: matéria seca da parte aérea aportada pelas culturas (coberturas e arroz); C\_raízes: matéria seca das raízes aportada pelas culturas (coberturas e arroz); Urease: enzima; CO<sub>2</sub>: respiração basal do solo; B\_glu: enzima  $\beta$ -glucosidase; Prod\_s/fert: produtividade (média dos anos) de arroz sem fertilização; Prod\_fert: produtividade (média dos anos) de arroz com fertilização; C\_estoque: estoque de carbono no solo (camada de 0-20 cm); N\_estoque: estoque de nitrogênio no solo (camada de 0-20 cm). Cachoeirinha, 2016. .... 101

<b>Figura 23.</b> Teores de amônio (a) e nitrato (b) no solo após o cultivo de arroz irrigado e soja em um Gleissolo Háplico. Barras verticais indicam o desvio padrão. *Tukey (p<0,05). .....	113
<b>Figura 24.</b> Atividade de $\beta$ -glucosidase (a), urease (b), fosfatase ácida (c) e fluoresceína diacetato (d) após o cultivo de arroz irrigado e soja em um Gleissolo Háplico. Barras verticais indicam o desvio padrão. *Tukey (p<0,05). .....	114
<b>Figura 25.</b> Comunidade microbiana de um Glessolo Háplico antes e após o cultivo de soja em área com longo histórico de cultivo de arroz irrigado. Barras horizontais indicam o desvio padrão. P < 0,05. ....	116
<b>Figura 26.</b> Comunidade microbiana de um Glessolo Háplico antes e após o cultivo de arroz irrigado em área com longo histórico de cultivo de arroz irrigado. Barras horizontais indicam o desvio padrão. P < 0,05. ....	116
<b>Figura 27.</b> Comunidade microbiana de um Glessolo Háplico após o cultivo de arroz irrigado e soja em área com longo histórico de cultivo de arroz irrigado. Barras horizontais indicam o desvio padrão. P < 0,05. ....	117
<b>Figura 28.</b> Índice de diversidade de shannon da comunidade microbiana de um Gleissolo Háplico previamente e após o cultivo de arroz irrigado e soja em área com longo histórico de cultivo de arroz irrigado. Tukey(P < 0,05). ....	117
<b>Figura 29.</b> Produção de matéria seca de azevém em um Gleissolo Háplico após o cultivo de arroz irrigado e soja em área com longo histórico de cultivo de arroz irrigado. Barras verticais indicam desvio padrão. *Tukey (p<0,05). ....	119

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

O Estado do Rio Grande do Sul possui 3,1 milhões de ha de solos de terras baixas com infraestrutura para exploração de arroz irrigado e outras culturas de grãos como a soja. Dessa área cultivam-se atualmente cerca de 1,1 milhão de ha com arroz irrigado e, aproximadamente, 280 mil ha de soja, como principal cultura de rotação. Os outros 1,7 milhão de ha ficam em pousio durante o verão ou explorados por atividade pecuária extensiva de baixo investimento econômico.

Nos solos de terras baixas, o manejo do solo é conduzido sob frequente revolvimento do solo, seja no preparo antecipado de outono (cultivo mínimo), na primavera (preparo convencional) ou no sistema pré germinado. Esses manejos auxiliam na uniformização da superfície do solo para o estabelecimento da lâmina d'água na irrigação, incorporação dos resíduos vegetais de arroz entre safras, além do controle de plantas daninhas. Contudo, o revolvimento frequente do solo nas áreas de terras baixas provoca a diminuição dos estoques de carbono, menor agregação, redução da capacidade de troca de cátions (CTC), atividade biológica, retenção de água e disponibilidade de nutrientes nesses solos.

As práticas conservacionistas que contribuem para a melhoria da qualidade do solo ou para a mitigação dos problemas relatados ainda são incipientes em sistemas orizícolas de produção no Sul do Brasil. Entretanto, existem alternativas de manejo usadas em terras altas que podem apresentar potencial para a melhoria das condições do solo cultivado em terras baixas. Entre as práticas conservacionistas existentes pode-se destacar a semeadura direta (ausência de preparo do solo), a rotação de culturas, as culturas de cobertura no inverno e os sistemas integrados de produção agropecuária. A semeadura direta é uma prática de manejo que visa o mínimo revolvimento do solo, reduz a erosão

e as perdas de solo e aumento os estoques de carbono e nitrogênio. A rotação de culturas e o uso de culturas de cobertura possibilita o aumento da atividade microbiana e mudanças nos fluxos de nutrientes no solo. Por fim, os sistemas integrados de produção agropecuária, com adoção conjunta de várias práticas de manejo, possibilitam maximizar as melhorias nas características do solo.

Visto as importantes vantagens da semeadura direta seria lógico haver uma ampla adoção desse sistema nas lavouras de arroz irrigado no Sul do Brasil. Contudo, estima-se que esse manejo do solo seja adotado em menos de 1 % das área do RS, pois ainda existem gargalos para a utilização da semeadura direta como a elevada quantidade de resteva (resíduos vegetais) após a colheita do arroz e a excessiva umidade do solo no período da colheita.

Com base nos cenários de perda de qualidade do solo sob cultivo de arroz irrigado e nas alternativas de práticas conservacionistas existentes para as terras altas é possível supor que a semeadura direta, a rotação de culturas, as culturas de cobertura e os sistemas integrados de produção agropecuária, podem contribuir para a melhoria das características físicas, químicas e biológicas do solo e, conseqüentemente, da qualidade do mesmo. Para testar esta hipótese, o trabalho teve por objetivo avaliar as mudanças na dinâmica e na atividade das populações microbianas, os estoques de carbono e nitrogênio, a disponibilidade de nutrientes e as principais propriedades físicas em solos cultivados com arroz irrigado, em experimentos com práticas conservacionistas de média e longa duração.

## **2 CAPÍTULO I – ESTADO ATUAL DO CONHECIMENTO**

### **2.1 Solos de terras baixas**

No RS os solos de terras baixas ocupam cerca de 6,4 milhões de hectares, o que representa 24% do território estadual (Pinto et al., 2004). Esses solos ficam localizados nas regiões orizícolas da Planície Costeira Externa, Planície Costeira Interna, Zona Sul, Região Central, Campanha e Fronteira Oeste do RS. Nas terras baixas do RS, 55% dos solos são Planossolos, 8% são Plintossolos e 7% são Gleissolos (Pinto et al., 2004). Esses solos ocorrem nas partes mais baixas da paisagem, em superfícies planas ou suavemente onduladas. Além disso, esses solos possuem horizontes subsuperficiais adensados com alto teor de argila o que confere baixa condutividade hidráulica. Dessa forma, esses solos ficam sujeitos a saturação por água e eventuais alagamentos.

Os solos cultivados com arroz irrigado são o principal agroecossistema no mundo onde as plantas são cultivadas sob irrigação por alagamento. A implantação da lâmina de irrigação do arroz é uma grande barreira física para a difusão de oxigênio. Em trabalhos realizados verificou-se que a difusão de oxigênio por meio da lâmina de irrigação é cerca de 10.000 vezes inferior comparado a atmosfera (Ponnamperuma, 1972). Essa condição modifica totalmente a dinâmica microbiana e as propriedades químicas e físicas do solo (Ponnamperuma, 1972). Assim, esses solos dividem-se em três compartimentos: i) camada superficial oxidada que consiste nos primeiros 3-6 mm de solo ainda recebem alguma influência do O<sub>2</sub> atmosférico, onde podem ser encontradas algumas espécies de microrganismos que desenvolvem-se em ambientes aeróbios ii) solo anaeróbio e iii) rizosfera, camada oxidada sob influência da difusão de oxigênio proveniente dos aerênquimas das plantas de arroz. No ambiente anaeróbio, maior compartimento do solo, encontram-se as

bactérias anaeróbias que caracterizam esse ambiente, como as redutoras de nitrogênio, ferro e enxofre, as produtoras de metano, entre outras (Liesack, 2000). Com o alagamento, em poucos dias há uma rápida transição da biota aeróbia para anaeróbia no solo. Na ausência do  $O_2$  como eletroceptor final, os microrganismos passam a utilizar eletroceptores alternativos como  $NO_3^-$ ,  $Mn^{4+}$ ,  $Fe^{3+}$ ,  $SO_4^{2-}$  e compostos orgânicos que são reduzidos a  $N_2$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $Fe^{2+}$ ,  $H_2S$  e  $CH_4$ , respectivamente (Ponnamperuma, 1972). Essas mudanças que ocorrem no solo afetam diretamente a dinâmica de nutrientes no solo como por exemplo a maior liberação de íons  $Fe^{2+}$  e  $Mn^{2+}$  por efeito de massa podem deslocar íons como  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $K^+$  e  $NH_4^+$  e outros íons da CTC do solo e aumentar a concentração desses íons na solução do solo (Carlos et al., 2015). Por outro lado, os altos teores de  $Fe^{2+}$  ou  $H_2S$  podem ser tóxicos ao desenvolvimento de plantas de arroz (SOSBAI, 2016). Ou ainda sob o ponto de vista ambiental, as condições reduzidas do solo faz com que o cultivo de arroz no mundo seja a principal atividade agrícola responsável pela maior parte das emissões de  $CH_4$  que é um dos principais gases de efeito estufa (Liesack et al., 2000).

Do ponto de vista físico, os solos cultivados com arroz irrigado também possuem características físicas distintas. Esses solos, em geral, possuem horizonte B com alto teor de argila, baixa proporção de meso e macroporos, o que os confere uma baixa capacidade infiltração que contribui para a retenção de água durante o período de irrigação e reduz as perdas de água principalmente por percolação.

### **2.1.1 Manejo dos solos de terras baixas no Rio Grande do Sul**

No RS, o arroz é cultivado predominantemente por cultivo mínimo, convencional e pré germinado em cerca de 60, 30 e 10% da área total, respectivamente (SOSBAI, 2016). Independente do sistema de cultivo, o solo é periodicamente preparado previamente ao estabelecimento da cultura do arroz (SOSBAI, 2016). Essas áreas são cultivadas dessa forma, em muitos casos, a mais de cem anos, considerando-se que em 1906 instalaram-se as primeiras lavouras de arroz irrigado no Rio Grande do Sul. Esse manejo feito anualmente

provoca redução dos estoques de matéria orgânica do solo, diminuição da atividade biológica do solo, menor capacidade de troca de cátions (CTC), menor disponibilidade de nutrientes, selamento superficial, compactação, desagregação do solo e tantos outros fatores prejudiciais ao solo e ao desenvolvimento de plantas.

No solo, o gradeamento frequente associado as maiores temperaturas de clima subtropical úmido favorece a oxidação do solo e a uma rápida decomposição da matéria orgânica do solo e redução da estabilidade dos agregados do solo (Balota et al., 2003). Essas transformações são prejudiciais, pois a oclusão do carbono orgânico no interior dos macroagregados é um dos principais mecanismos de estabilização da matéria orgânica no solo (Beare et al., 1994). Porém, o preparo do solo tem-se utilizado pelos agricultores nas lavouras de arroz irrigado para: I) nivelamento das áreas para uniformizar a distribuição da água de irrigação, II) incorporar a grande quantidade de resteva (resíduos vegetais) do arroz na pós-colheita, III) desfazer os rastros no solo feito pelos tráfego de colhedoras sob condições hidromórficas. As práticas conservacionistas de manejo do solo em ambientes de terras baixas do Sul do Brasil não acompanharam a adoção de semeadura direta que ocorreu no Planalto do RS na década de 90 (FEBRAPDP, 2016). A implantação da semeadura direta nas áreas de terras altas promoveram, em médio e longo prazo, a redução da erosão, de perdas de solo e oacúmulo de matéria orgânica, maior CTC e maior disponibilidade de nutrientes (Bayer et al., 2000; Balota et al., 2004).

Por outro lado, alguns produtores pioneiros na implantação da semeadura direta em solos de terras baixas verificam uma redução substancial no custo do preparo de solo que é de R\$ 500,00 a R\$ 700,00 por ha (IRGA, 2017). Além disso, a semeadura direta possibilita se estabelecer maior percentual das lavouras de arroz dentro da época recomendada, que possui uma produtividade de grãos de arroz de 10% a 20% superior às áreas que necessitam de preparo do solo na primavera e conseqüentemente parte da semeadura ocorrerá fora da época preferencial (Menezes et al., 2012).

O uso de culturas de cobertura no outono-inverno e a semeadura direta são fundamentais para a manutenção da qualidade dos solos (Calegari et

al., 2013), principalmente em condições subtropicais, como no Sul do Brasil (Balota et al., 2014a). Inúmeros benefícios decorrem do uso de culturas de coberturas, tais como maior estabilidade ao solo (Hill et al., 2016), redução do estabelecimento de plantas daninhas (O'Reilly et al., 2012) e aumento da disponibilidade de nitrogênio no período de desenvolvimento das culturas com fins de interesse econômico (O'Reilly et al., 2012; O'Connell et al., 2015).

A rotação de culturas é outra prática conservacionista que contribui para o incremento da diversidade de agroecossistemas (Mcdaniel e Grandy, 2016), estoques de carbono (Mcdaniel e Grandy, 2016), disponibilidade de nitrogênio, biomassa microbiana, atividade de enzimas extracelulares (Balota et al., 2011, 2014a) e diversidade microbiana do solo (Quadros et al., 2012; Souza et al., 2015).

Por fim, os sistemas integrados de produção agropecuária (SIPA) são alternativas de produção sustentáveis de sinergismo entre a produção de alimentos, energia, fibra e a qualidade ambiental (Lemaire et al., 2014). Os SIPA estão baseados no uso intercalado ou simultâneo no espaço e no tempo da atividade pecuária com lavouras e florestas, que propiciam a otimização do uso dos recursos naturais tornando mais sustentável a produção de alimentos (Anghinoni et al., 2013). Diversos trabalhos têm verificado que o uso dos SIPA estimula inúmeras melhorias no compartimento solo (Anghinoni et al., 2013; Assmann et al., 2014; Costa et al., 2015; Martins et al., 2017), planta (Carmona et al., 2016) e animal (Carvalho et al., 2010). Os SIPA preconizam a utilização em conjunto de práticas como a rotação de culturas, semeadura direta e o cultivo de pastagens no período de outono inverno (Anghinoni et al., 2013). A adoção dessas práticas em conjunto potencializa os benefícios alcançados na melhoria da qualidade do solo em relação a sua adoção de forma isolada (Anghinoni et al., 2013; Carvalho et al., 2010).



## **2.2 Indicadores de avaliação da qualidade do solo**

### **2.2.1 Qualidade do solo**

Os estudos acerca da qualidade do solo se intensificaram no mundo nos anos 90 a partir da preocupação da qualidade ambiental dos solos agrícolas e do cenário de degradação decorrente da intensificação dos monocultivos e simplificação dos manejos (Vezzani e Mielniczuk, 2009). Nesse período, alguns autores precursores dos estudos de qualidade do solo procuraram alertar em relação aos problemas decorrentes do manejo não conservacionista do solo e sua degradação (Lal e Pierce, 1991). Esses autores observaram uma série de problemas nas propriedades químicas, físicas e episódios de contaminação por moléculas de agroquímicos. Diante desse cenário, esses autores focaram em sistemas de produção agrícola baseados em manejo inovadores, capazes de balancear as demandas do solo e das culturas (Vezzani e Mielniczuk, 2009). Esses sistemas não são focados em maximizar a produção, mas sim em maximizar o uso do recurso e sustentar a produtividade por um longo período (Lal e Pierce, 1991).

Diante desse cenário, Doran e Zeiss (2000) propuseram que o conceito utilizado para qualidade do solo: “Qualidade do solo é a capacidade do solo em funcionar dentro dos limites de um ecossistema natural ou manejado, para sustentar a produtividade de plantas e animais, manter ou aumentar a qualidade do ar e da água e promover a saúde das plantas e dos homens”. Com um sentido mais objetivo, a qualidade do solo é a capacidade do solo em exercer suas funções na natureza que incluem: funcionar como base para o crescimento de plantas, regular e compartimentalizar o fluxo de água no ambiente, armazenar e promover a ciclagem de nutrientes e atuar como tampão ambiental, atenuação e degradação de substâncias prejudiciais ao ambiente (Karlen et al., 1994).

Até meados da década de 90, na maioria das pesquisas, utilizavam-se apenas os indicadores químicos e físicos do solo para diagnosticar a qualidade e o manejo adotado em um solo. Posteriormente, verificou-se a grande importância da atividade microbiana nos solos e que muito dos atributos químicos e físicos são decorrência dos processos bióticos do solo (Lee et al., 1996). Um dos benefícios da utilização de atributos microbiológicos é a sua

sensibilidade as práticas de manejo do solo (Burns et al., 2013; Balota et al., 2014b) e podem ser indicadores úteis para avaliar a qualidade do solo (Burns et al., 2013). Entre os atributos microbiológicos de importância agrícola, destaca-se a atividade microbiana onde pode ser avaliado por meio da respiração basal, atividades de enzimas extracelulares, biomassa bacteriana, entre outros (Burns et al., 2013; Balota et al., 2014c).

### **2.2.2 Biomassa microbiana do solo**

A biomassa microbiana corresponde a parte viva da matéria orgânica do solo e é englobada por arqueobactérias, bactérias e eucariotos (Vance et al., 1987). A biomassa microbiana representa, em média, de 1 a 5% do carbono orgânico e o nitrogênio total do solo (Balota, 2017). Os fungos e as bactérias são a maior porção (75-98%), os protistas possuem de 1-6% e a meso e micro-fauna são uma pequena fração da biomassa total do solo (Beare, 1997). A biomassa microbiana tem sido associado a inúmeras funções como amonificação, nitrificação, fixação biológica de N (Pereira et al., 2007) e atividade de enzimas no solo (Mendes et al., 2003; Burns et al., 2013). Além disso, a biomassa microbiana tem o papel de ciclagem de nutrientes, supressão de patógenos do solo, decomposição de resíduos e degradação de poluentes no solo (Kaschuk et al., 2010).

A biomassa microbiana é um indicador de qualidade do solo que é relacionado com outros atributos químicos e físicos do solo, biodiversidade e produtividade das culturas (Franchini et al., 2007; Hungria et al., 2009; Kaschuk et al., 2010). Os maiores níveis de carbono da biomassa microbiana (CBM) no solo demonstram maior capacidade de fixação biológica de N e promovem um ambiente melhor para o sistema radicular. Com relação ao manejo do solo, a semeadura direta pode aumentar os teores de CBM de 118% (Balota et al., 1998), 114% (Pereira et al., 2007) e 114% (Franchini et al., 2007) em Latossolos no Sul do Brasil. A semeadura direta é uma prática de manejo que minimiza os efeitos do preparo do solo, mantém os resíduos vegetais em superfície, aumenta os níveis de umidade, atividade e diversidade biológica, além da estabilidade de agregados do solo (Balota, 2017). Além disso, esse manejo conservacionista

aumenta o carbono orgânico do solo, reduz as temperaturas extremas e a densidade do solo (Hungria e Vargas, 2000). Dessa forma, a semeadura direta torna as condições do solo mais favoráveis para o desenvolvimento dos microrganismos e aumento da biomassa microbiana (Balota, 2017). Em sistemas conduzidos sob semeadura direta, tem-se verificado que a redução do revolvimento no solo favorece mais a população de fungos comparado a de procariotos, principalmente devido a manutenção da rede de hifas pelo não preparo do solo (Frey et al., 1999; Bailey et al., 2002). A redução do preparo do solo é mais importante para a manutenção dos altos níveis de biomassa microbiana do solo do que a rotação de culturas (Balota et al., 2003). Esse fato se deve principalmente em função das altas temperaturas no sul do Brasil que degradam rapidamente a biomassa vegetal, independentemente se for após o cultivo de leguminosas, como a soja, ou de gramíneas C4, como o milho, que aporta grande quantidade de resíduos vegetais (Balota et al., 2003).

A rotação de culturas, assim como as plantas de cobertura, possuem grande influência na composição e atividade microbiana do solo, bem como na velocidade de decomposição matéria orgânica do solo. Essas características estão atreladas as inúmeras diferenças intrínsecas que cada espécie possui. A relação C:N, quantidade de fitomassa adicionada, relação lignina:celulose da parte aérea e raízes e a qualidade e quantidade dos exsudatos radiculares controlam a dinâmica da atividade microbiana do solo (Balota, 2017).

Sob rotação de culturas, a maior proporção de leguminosas aumenta o teor de CBM; porém, alguns ensaios conduzidos no Brasil não verificaram efeito no CBM quando se utilizou leguminosas no sistema de rotação de culturas (Balota et al., 2003; Pereira et al., 2007). Leguminosas, por exemplo, possuem a capacidade de excretar flavonóides na rizosfera que estimulam simbioses com *rhizobium* e micorrizas (Hungria e Stacey, 1997), aumenta a mineralização de C e N no solo, principalmente pela qualidade do resíduo, menor relação C:N o que aumenta a atividade microbiana no solo (Balota et al., 2004). Franchini et al. (2007) verificaram o aumento dos teores de CBM em áreas de soja cultivadas anteriormente com tremoço (*Lupinus Albus L.*) quando comparadas ao cultivo anterior com trigo (*Triticum aestivum*).

Gramíneas como milho e arroz possuem capacidade de aumentar a biomassa microbiana em profundidades superiores a 5 cm (Balota et al., 2004). A lixiviação de compostos orgânicos para maiores profundidades e o sistema radicular fasciculado que ocupam maior volume de solo contribuem para tal efeito. Na superfície, a alta temperatura, em ambientes subtropicais, podem aumentar consideravelmente a decomposição da biomassa microbiana (Balota et al., 2004).

Além das culturas anuais de grãos, no Brasil há um amplo cultivo de pastagens, próximo a 190 milhões de ha, que também influenciam a biomassa microbiana do solo. Em sistemas integrados de produção agropecuária (soja-aveia/azevém) pastejos mais moderados (menor carga animal), não afetaram os níveis de biomassa microbiana quando comparado aos tratamentos sem pastejo (Souza et al., 2008). Já sob alta intensidade de pastejo (baixa altura da pastagem-10cm de azevém/aveia-preta) e menor aporte de fitomassa ao solo houve redução dos teores de C-mic, N-mic e P-mic. Condições de pastejo contínuo com alta lotação de animais, baixa fertilização e pouca aplicação de corretivos pode acarretar em problemas de diminuição da biomassa microbiana, menor produtividade das pastagens, compactação do solo, esgotamento de nutrientes e erosão (Valpassos et al., 2001; Oliveira et al., 2004).

### **2.2.3 Diversidade microbiana do solo**

A diversidade microbiana do solo é usada como um indicador de qualidade do solo pois pode mensurar a presença e as proporções de determinados grupos microbianos em um ambiente (Pastorelli et al., 2013). Dessa forma, supõe-se que solos com maior diversidade microbiana possuem maior resiliência a atividades humanas como agricultura e mineração (Quadros et al., 2012).

As comunidades microbianas são dinâmicas e sensíveis em relação as mudanças ambientais como pH, temperatura, aeração, disponibilidade de nutrientes, umidade (Chen et al., 2015). As interações humanas no solo como a agricultura e, especificamente, o manejo do solo, alteram sensivelmente os atributos do solo relacionados as comunidades microbianas (Govaerts et al.,

2007). Dessa forma, as práticas conservacionistas de manejo impactam diretamente nos fluxos de carbono (quantidade e qualidade) e de nutrientes com impactos no perfil da comunidade microbiana do solo (Jiang et al., 2016). Contudo, estudos de avaliação da comunidade microbiana utilizando ferramentas de sequenciamento de nova geração são recentes e ainda há uma grande lacuna de conhecimento a ser avançado (Pylro et al., 2014).

Em experimento de longa duração no Sul do Brasil, verificou-se o aumento da diversidade microbiana em solos sob semeadura direta e uma forte relação com o aumento nos teores de carbono orgânico total, nitrogênio total, fósforo disponível e magnésio trocável (Quadros et al., 2012). Outros autores observaram alterações nas comunidades microbianas do solo acompanhadas de aumentos no teor de N mineral, carbono orgânico total e biomassa microbiana sob semeadura direta e cultivo de algodão (Feng et al., 2003). Um dos poucos trabalhos conduzidos em sistemas de produção de arroz irrigado, em um amplo estudo na costa leste da Ásia, verificou que a rotação de arroz com leguminosas aumentou o teor de nitrogênio total e o potencial redox do solo com influência na composição microbiana do solo (Jiang et al., 2016).

#### **2.2.4 Atividade enzimática do solo**

As enzimas presentes no solo são de fundamental importância, pois catalisam inúmeras reações no solo, sendo vitais para processos de degradação de microrganismos no solo, decomposição da matéria orgânica, ciclagem de nutrientes e síntese da matéria orgânica e agregação do solo (Dick, 1992). Os compostos orgânicos de plantas, microrganismos e animais, formados predominantemente por carbono e nitrogênio são estruturalmente complexos e diversos, o que exige um ataque combinado de consórcios microbianos que despolimerizam e posteriormente mineralizam os compostos orgânicos (Burns et al., 2013).

A atividade da microbiota do solo estimulada por meio da atividade de enzimas extracelulares é utilizada como uma maneira de melhor entender os processos de mineralização e a intensidade dos fluxos de energia no solo (Ferreira et al., 2011; Burns et al., 2013; Pandey et al., 2014). Uma das hipóteses

é de que a produção dessas enzimas evoluiu conforme a demanda de nutrientes e energia por parte dos microrganismos (Burns et al., 2013). Ou seja, em situação de maior necessidade por determinados nutrientes, os microrganismos passam a sintetizar e excretar maior quantidade de enzimas relacionadas a mineralização desses nutrientes. No solo, tanto a síntese de complexos orgânicos recalcitrantes quanto a degradação da matéria orgânica é realizada pelas enzimas microbianas; dessa forma, o balanço entre esses dois processos determinará o quanto de carbono será adicionado para o solo (Six et al., 2006).

A atividade enzimática é um atributo frequentemente utilizado para avaliar e diagnosticar a qualidade microbiológica do solo, pois é um indicador sensível das alterações ambientais e podem identificar se as práticas de manejo estão sendo adotadas adequadamente (Doran e Parkin, 1994; Niemeyer et al., 2012). Muitos trabalhos utilizam somente a biomassa microbiana; porém, a mesma, sem análise da atividade de enzimas extracelulares, limita a avaliação do estado metabólico das comunidades microbianas do solo (Oliveira et al., 2001).

Diversos trabalhos relacionam o aumento da atividade e diversidade microbiana e uma série de atividades enzimáticas do solo com a melhoria da fertilidade do solo e a produtividade de plantas (Bardgett et al., 2005; Shawy e Burns, 2005; Trasar-Cepeda et al., 2008; Powlson et al., 2011). A maior parte da atividade das enzimas no solo encontram-se no interior de macroagregados, na rizosfera e em resíduos vegetais em decomposição (Burns et al., 2013).

Sistemas de produção de longo prazo verificaram que áreas conduzidas sob pastagem cultivada (*Festuca arundinaceae*) continuamente apresentaram maior atividade de enzimas extracelulares (amidase, arylsulfatase, desaminase, hidrólise de diacetato de fluoresceína, celulase e urease) do que áreas conduzidas com culturas anuais estivais e hibernais cultivadas em rotação (Burns et al., 2013). Trabalhos relatam que a maior atividade enzimática ocasionada por pastagens contínuas ocorre principalmente devido ao não revolvimento do solo e pelo maior efeito rizosférico, especialmente pelo fato do sistema radicular fasciculado das gramíneas forrageiras possuir uma maior área de contato com o solo (Souza et al., 2008).

Como as enzimas são encontradas em baixas concentrações no solo, a quantificação é feita de maneira indireta, por meio de determinação da sua atividade. Usualmente a atividade é determinada por meio da quebra de substratos específicos para cada enzima avaliada, em condições controladas de pH e temperatura (Burns et al., 2013). Entre essas enzimas, frequentemente a urease, fosfatase ácida,  $\beta$ -glucosidase e o método da hidrólise do diacetato de fluoresceína (FDA) são utilizadas na avaliação da atividade microbiana do solo (Burns et al., 2013).

A urease é uma enzima que tem origem vegetal e microbiana e é responsável pela transformação da molécula de ureia em amônia e gás carbônico. Essa enzima é fundamental no solo, pelo fato de ser responsável pela hidrólise da ureia que é o principal fertilizante nitrogenado utilizado nas culturas agrícolas, principalmente nas gramíneas (Balota, 2017). Quando sua atividade é muito intensa, a taxa de formação de amônia deve ser alta, gerando grandes perdas em decorrência da amônia ser volátil. Por outro lado, a baixa atividade da urease também não é desejável pelo fato de redução da disponibilidade de amônio e suprimento de N às plantas (Balota, 2017).

A fosfatase é outra enzima que participa do ciclo dos nutrientes no solo. A fosfatase é a denominação genérica de um grupo de enzimas responsáveis pela transformação do éster e anidros de fosfato ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) (Balota, 2017). Com a ação da fosfatase, as moléculas orgânicas que possuem grupos fosfatos são hidrolisadas, liberando álcool e ácido fosfórico. As fosfomonoesterases mais estudadas são as fosfatases ácidas e alcalinas pela sua importância na mineralização do fósforo de compostos orgânicos e disponibilização às plantas. A grande parte das fosfatases é sintetizada por microrganismos; porém, a fosfatase ácida também pode ser produzida por plantas (Burns et al., 2013). A regulação das enzimas extracelulares (EE) é ativada conforme a demanda. Um exemplo é a condição de baixa disponibilidade de P inorgânico solúvel no solo e, conseqüentemente, verifica-se um aumento na síntese da enzima fosfatase ácida (Burns et al., 2013).

A  $\beta$ -glucosidase é uma das enzimas mais importantes na avaliação da qualidade do solo devido ao seu papel na quebra de moléculas de celulose. A  $\beta$ -glucosidase é a responsável pela hidrólise da celulose e é detectada em

animais, plantas e microrganismos. Assim, catalisa a hidrólise de um dissacarídeo (celobiose) que possui ligação glicosídica  $\beta$ -1,4, sendo gerada a glicose (Balota, 2017).

Além das hidrolases, outras enzimas como proteases, lipases e esterases podem ser avaliadas indiretamente pelo método da hidrólise do diacetato de fluoresceína (FDA). Essa método é utilizado como indicador de qualidade do solo (Taylor et al., 2002; Martins et al., 2017) e sua atividade é determinada a partir da emissão de fluoresceína gerada pela hidrólise do diacetato (Adam e Duncan, 2001).

### **2.2.5 Estoques de carbono e nitrogênio**

Os estoques de carbono e nitrogênio são considerados elementos chave para avaliar a qualidade de um solo (Vezzani e Mielniczuk, 2009). O carbono está diretamente relacionado à CTC, disponibilidade de nutrientes, propriedades físicas, atividade de enzimas extracelulares, dinâmica da água e produtividade dos cultivos. Contudo, as condições de alagamento que ocorrem de 90 a 100 dias durante o ciclo do arroz irrigado ocasiona inúmeras alterações de ordem microbiana e química nos solos inundados (Ponnamperuma, 1972; Carlos et al., 2015). Devido as condições de hipóxia predominam no solo microrganismos anaeróbios e facultativos que degradam lentamente as moléculas orgânicas (Ponnamperuma, 1972). Nesse cenário, há um favorecimento do acúmulo de carbono em solos cultivados com arroz irrigado pelo alto aporte de fitomassa, principalmente do arroz, e pela redução da mineralização do carbono orgânico em ambientes alagados (Ponnamperuma, 1972).

Mesmo com esse cenário de acúmulo de carbono favorável, no RS 71% dos solos orizícolas possui baixo teor de MO ( $\leq 2,5\%$ ) (Boeni et al., 2010). Além disso, a Zona Sul e as Planícies possuem alta frequência ( $>90\%$ ) de solos com baixos teores de argila ( $<25\%$ ) (Boeni et al., 2010). Essas características refletem em solos de baixa capacidade de troca de cátions (CTC) e baixa disponibilidade de nutrientes, o que pode influenciar na produtividade da cultura do arroz.



Nesse sentido, a adoção de semeadura direta passa a ser uma potencial alternativa para aumentar os estoques de carbono no solo visto a redução do revolvimento e a oxidação do carbono do solo. Além disso, a adoção de coberturas de solo e a adoção dos SIPA também são alternativas, visto que na América do Sul, no período de outono-inverno, muitos solos arroseiros ficam em pousio, contribuindo para uma baixa adição de carbono ao solo (2-3 Mg C ha<sup>-1</sup> ano<sup>-1</sup>) (Alvarez et al., 2017).

### **2.2.6 Disponibilidade de nutrientes**

A disponibilidade de nutrientes é um dos principais atributos químicos do solo de avaliação da fertilidade. Na cultura do arroz, o teor de nutrientes na solução do solo é uma determinação amplamente utilizada em ensaios experimentais de solos alagados (Carlos et al., 2015; Borin et al., 2016).

Em SIPA, o pastejo afeta o fluxo de nutrientes no solos em diversas formas, como o pisoteio, o consumo, a deposição de excretas, a redistribuição e a exportação de nutrientes (Lavado et al., 1996). O pastejo desencadeia uma série de alterações fisiológicas nas plantas e, conseqüentemente, aumentam o crescimento e produção de biomassa vegetal (Carvalho et al., 2010). Essa condição impacta também no maior desenvolvimento do sistema radicular de plantas pastejadas, que exploram um volume maior do solo e, conseqüentemente, intensificando sua contribuição na interceptação, absorção e ciclagem de nutrientes (Anghinoni et al., 2013). Outro fator relevante é o retorno dos nutrientes de plantas forrageiras pastejadas ao solo via urina e esterco de animais (Carvalho et al., 2010; Assmann et al., 2017). Alguns estudos têm verificado que os animais (bovinos) exportam baixas quantidades de nutrientes nas suas carcaças, 2,8; 1,0 e 0,22 kg de N, P e K, respectivamente, para cada 100 kg de gado produzido (McDonald et al., 2010) e cerca de 80-90% desses nutrientes retornam ao solo via urina, esterco e resíduos vegetais em senescência (Assmann et al., 2017). Dessa forma, a inserção de SIPA em solos orizícolas podem ser uma alternativa para o aumento da disponibilidade de nutrientes para a cultura do arroz e contribuir para a produtividade de grãos.

### **3 CAPÍTULO II – STUDY 1: INCREASED ENZYMATIC ACTIVITY AND DECREASED MICROBIAL DIVERSITY OF RICE PADDY UNDER A LONG-TERM NO-TILLAGE SOIL MANAGEMENT SYSTEM<sup>3</sup>**

#### **3.1 Abstract**

Soil management systems cause many changes in the soil microenvironment that directly affect soil microorganism activity and diversity. This study evaluated the microbial enzymatic activity and diversity in an Entisol cultivated with rice under different managements for more than 20 years. The experiment started in the 1994/95 growing season. Treatments included no-tillage, conventional, and pre-germinated management systems. Soil samples were collected before and after harvest for enzymatic analysis in 2014/15 and 2015/16 and for carbon and nitrogen content determination in September 2015. Microbial C and N, basal respiration, fluorescein diacetate (FDA) hydrolysis, acid phosphatase, urease, and  $\beta$ -glucosidase were also measured. To quantify microbial diversity, total microbial DNA was extracted from soil samples, amplified by polymerase chain reaction (PCR), and sequenced using the V4 region of 16S rRNA gene as target. After 20 years, the data obtained on most of the evaluation dates indicated that no-till increased microbial carbon, nitrogen, and enzyme activity. The enzyme activity was correlated with the soil organic carbon content and particulate fraction. Despite the relatively high enzyme activity with no-tillage, microbial diversity was reduced in this soil management system. The results suggest that no-tillage is an important management tool in the recovery of irrigated rice areas whose soil has undergone microbiological degradation. No-tillage increases soil

---

<sup>3</sup>Artigo submetido na revista Soil Applied Ecology.

carbon and extracellular enzyme (EE) activity, which are essential for soil quality maintenance and sustainable medium- and long-term food production.

**Keywords:** microbial activity, carbon, microbial diversity, no-tillage, *Oryza sativa* L.

### 3.2 Introduction

Brazil is the main producer of irrigated rice in Latin America (IRRI, 2016). About two million hectares are cultivated there (SOSBAI, 2016). At present, conventional tillage (CT) and pre-germinated (PG) systems are used as soil management practices. CT is used mainly in irrigated paddy fields and involves mechanical implements. Some regions in Brazil have been cultivated under this system for more than a century (SOSBAI, 2016). When this management is applied for extended periods, it reduces soil organic carbon, especially the labile fractions participating in soil biochemistry (Martinet al., 2017), nutrient availability, and extracellular enzyme activity (García-Orenes et al., 2010; Stavi et al., 2012b). In the PG system, the soil is flooded before it is sown with germinated seeds. This procedure controls weeds effectively but requires excessive soil preparation and, like CT, may compromise soil quality (SOSBAI, 2016).

No-Tillage (NT), an incipient management system used in Brazilian paddy fields, consists of sowing beneath plant residues on the soil surface. The residues are derived from the previous crop. NT enhances both soil chemistry and physical structure (Boddey et al., 2010; Castro Filho et al., 2002; Silva et al., 2014). The microenvironmental changes caused by NT increase microbial biomass and decrease the metabolic quotient (Balota et al., 2004; Bernard e Habash, 2009; Hungria et al., 2009; Babujia et al., 2010; Silva et al., 2014). NT may also promote the establishment of beneficial microorganisms in the soil (Ferreira et al., 2000; Hungria e Vargas, 2000; Kaschuk et al., 2006; Souza et al., 2013).

The NT system was first tested in Brazil in the 1970s. Its benefits are extensive and it is currently being deployed on about thirty-two million hectares

in the country, predominantly on upland soils (FEBRAPDP, 2016). Nevertheless, no-tillage has hardly been adopted in the lowlands of Southern Brazil because to the high production of vegetal residues after the harvest and the high water content in the soil (Botta et al., 2015). To date, there have been few studies involving NT in paddy fields (Martins et al., 2017).

Flooded rice significantly modifies soil oxygen diffusion. Microbiological (Pandey et al., 2014) and electrochemical (Ponnamperuma, 1972; Carlos et al., 2015) changes may occur in an hypoxic environment, which can transform the soil microbial community from aerobic to obligate and facultative anaerobic (Ponnamperuma, 1972). Soil redox reactions may increase pH, decrease redox potential ( $E_H$ ), and increase the availability of  $NH_4^+$ , P, K, Ca, and Mg (Ponnamperuma, 1972; Carlos et al., 2015).

The soil microbial community mineralizes organic macromolecules derived from plant and soil microorganism residues like cellulose, hemicellulose, pectin, chitin, and lignin (Hedges e Oades, 1997; Gessner et al., 2010). These substances provide energy and nutrients essential for soil microbial metabolism (Burns et al., 2013) and plant nutrition (Carlos et al., 2016). EE activity is affected by the cultivation system, plant residues, and soil depth (Deng e Tabatabai, 1997; Alkorta et al., 2003). For these reasons, several studies have been performed to investigate the effects of NT on microbial biomass and EE activity in Brazilian soils (Franchini et al., 2007; Babujia et al., 2010; Balota e Auler, 2011; Balota et al., 2014c). EE activity is influenced by temperature, humidity, aggregation, and soil carbon content. These, in turn, are directly affected by the type of soil management being used (Pereira et al., 2007; Babujia et al., 2010; Balota et al., 2014c).

Soil management changes can also affect the microbial profile and create conditions that either promote or inhibit the establishment of microorganisms. Consequently, soil management may influence the diversity of the microbial community (Dong et al., 2017).

A few long-term studies reveal the effects of soil management systems on microbiome dynamics (Pastorelli et al., 2013). These reports, however, only address a limited number of specific climate conditions (De Sanctis et al., 2012).

There are virtually no studies dealing with flooded rice cultivation using conservative soil management systems like NT (Pandey et al., 2014).

In the long term, rice cultivation systems may affect soil microbial community structure and function. The objective of this study was to evaluate over an extended time period the microbial activity and diversity in an irrigated rice paddy. Our hypothesis was that long-term conservative soil cultivation increases microbial diversity but increases microbial enzyme activity on readily degradable compounds. This type of soil management, then, allows organic carbon to accumulate.

### **3.3 Materials and methods**

#### **3.3.1 Field experiment**

The field trial was established in 1994/1995 at the Instituto Rio Grandense do Arroz (IRGA) in Cachoeirinha, Rio Grande do Sul, Brazil. It was run until 2016 at which time the soil microbial community and activity were analyzed. The experimental area was located at 29°57'02"S and 51°05'02"W at 7 m elevation. The soil was classified as an Entisol (US Soil Taxonomy, 1999).

#### **3.3.2 Treatments**

The soil was cultivated with rice under three different treatments: no tillage (NT), conventional tillage (CT), and a pre-germinated (PG) system. In the NT system, the soil was not harrowed, plowed, or otherwise mechanically treated to minimize disturbance. In the CT system, the soil was leveled and tilled before planting to provide conditions favorable for early rice plant development (SOSBAI, 2016). In the PG system, germinated seeds were sown in a previously flooded soil. In this treatment, the soil was tilled extensively (even more than CT) with a rotary hoe (SOSBAI, 2016). The experiment was designed in randomized blocks with three replications. Each block was 40 m x 28 m, and the total plot area was 1,120 m<sup>2</sup>.

### 3.3.3 Irrigated rice management

Fertilizers and pest control products were applied in accordance with the recommendations of Sosbai (2016) for irrigated rice. In 1994/95, the soil was fertilized with 95 kg ha<sup>-1</sup> nitrogen (N-urea), 60 kg ha<sup>-1</sup> phosphorus (P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>), and 75 kg ha<sup>-1</sup> potassium (K<sub>2</sub>O). After the experiment started, NPK was applied annually at the following rates: 120 kg ha<sup>-1</sup> N, 55 kg ha<sup>-1</sup> P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, and 80 kg ha<sup>-1</sup> K<sub>2</sub>O. In the final crop year (2015/16), NPK was applied in the following doses: 150 kg ha<sup>-1</sup> N, 70 kg ha<sup>-1</sup> P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, and 110 kg ha<sup>-1</sup> K<sub>2</sub>O. The following rice cultivars were sown: 1994/95: BR-IRGA 410; 2001/02-2003/04 and 2006/07-2007/08: IRGA 422 CL; 2004/05 and 2005/06: IRGA 417; 2008/09 and 2009/10: PUITA Inta CL; 2014/15: IRGA 424; and 2015/16: IRGA 424 RI. The average seeding density was 100 kg ha<sup>-1</sup>.

In winter and springtime, ryegrass (*Lolium multiflorum*) was cultivated on the experimental plots. The ryegrass was sown in autumn after the soil was chemically desiccated in preparation for sowing summer crops. The average ryegrass yield was ~3,500 kg ha<sup>-1</sup> over autumn and winter (Bohnen et al., 2005). Due to a high level of weed (red rice, *Oryza sativa*) infestation, the soybean (*Glycine max*) cultivar BRS cultivar was planted instead of rice in 2010/11, 2011/12, 2012/13, and 2013/14. The soy seeds were planted at a linear density of 14 m<sup>-1</sup> and a row spacing of 40 cm.

### 3.3.4 Sampling and analyses

Eight subsamples were randomly collected from each experimental plot using a 5-cm diameter auger at a 0-5 cm soil depth. Decomposing superficial organic residue was removed, and the subsamples were blended to make up one sample per plot. Soil samples were immediately stored at 4 °C until the time of analysis. For the microbial biomass determination and enzymatic analyses, each soil sample was passed through a 2-mm sieve. For the extracellular enzyme activity and microbial carbon and nitrogen determinations, samples were collected from flooded soil in September 2014, April 2015, September 2015, and

January 2016, and from drained soil in March 2016. For the microbial diversity evaluation via partial 16S rRNA sequencing, samples were collected from flooded soil in December 2015.

### **3.3.5 Microbial carbon and nitrogen**

The microbial biomass carbon and nitrogen were quantified by irradiation-extraction following the methodology proposed by Ferreira et al. (1999). The soil samples were heated in a microwave oven (Model NN-560BH, Panasonic, Newark, NJ, USA) at 120 v (60 Hz), 2,450 MHz, and  $2.52 \times 10^5$  J for 3 min. The microbial biomass carbon (MBC) and the microbial biomass nitrogen (MBN) were extracted with a 0.5 M  $K_2SO_4$  solution. The MBC and MBN were determined by wet combustion and Kjeldahl digestion, respectively (Tedesco et al., 1995).

### **3.3.6 Basal respiration**

The basal respiration was evaluated by the irradiation-incubation method and estimated from the amount of  $CO_2$  released after 48 h. Soil samples under 70% field capacity were incubated at 25 °C in airtight flasks containing NaOH to capture the  $CO_2$  evolved from microbial respiration. The  $CO_2$  was quantified by titrating the residual NaOH with HCl (Stotzky, 1972).

### **3.3.7 Fluorescein diacetate (FDA) hydrolysis determination**

Two grams of soil from each sample was added to each of two volumetric flasks containing 15 mL phosphate buffer and 0.2 mL fluorescein diacetate (FDA). The flasks were kept under agitation and incubated at 30 °C for 30 min. Fifteen milliliters of a 2:1 chloroform:methanol mixture was then added to each flask and the samples were centrifuged at 2,000 rpm for 3 min. The color intensity of the supernatant was determined by spectrophotometry at 490 nm (Adam and Duncan, 2001).

### **3.3.8 Acid phosphatase determination**

One gram of soil was placed in a closed Erlenmeyer flask containing 1 mL *p*-nitrophenyl phosphate and 4 mL modified universal buffer (MUB) at pH 6.5 and incubated at 37 °C for 1 h. After incubation, 1 mL 0.5 M CaCl<sub>2</sub> and 4 mL 0.5 M NaOH were added to the flask. The mixture was then filtered through a Whatman No. 2V paper. The phosphate activity was determined by spectrophotometry at 400 nm against a *p*-nitrophenol standard (Tabatabai, 1982).

### **3.3.9 Urease determination**

Five grams of each soil sample were transferred to a 50 mL test tube containing 9 mL tris (hydroxymethyl) aminomethane (THAM) buffer and 0.2 M urea (CH<sub>4</sub>N<sub>2</sub>O) solution. The test tubes were then incubated at 37 °C for 2 h. After incubation, 35 mL KCl-Ag<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> solution at 4 °C were added to the test tubes to make up a total volume of 50 mL. Microdistillation was used to determine the amount of NH<sub>4</sub><sup>+</sup> generated by the action of urease on urea (Tedesco et al., 1995).

### **3.3.10 β-glucosidase determination**

β-glucosidase activity was determined by incubating 1 g soil with 1 mL *p*-nitrophenyl-β-glucopyranoside substrate and 4 mL pH 6.0 buffer at 37° C for 1 h. Then 1 mL 0.5 M CaCl<sub>2</sub> and 4 mL Tris buffer (pH 12.0) were added to precipitate the humic substances and *p*-nitrophenol. The latter was measured by colorimetry at 410 nm (Tabatabai, 1982). The enzyme activity of the control was measured as described above but in the absence of soil.



### **3.3.11 Soil physics**

The soil physical properties were measured, in September 2014, using undeformed samples collected in triplicate at four sampling depths (0-5 cm, 5-10 cm, 10-15 cm, and 15-20 cm). Samples were obtained with Uhland equipment. Soil density, macroporosity, microporosity, and total porosity were determined following the recommendations of (EMBRAPA,1997).

### **3.3.12 Soil carbon and nitrogen**

The C and N contents were analyzed in layer of soil 0 to 5 cm in March 2015. The soil samples resulted in eight sub-samples per experimental plot in all field repetitions. The soil was dried (45°C) and sieved through a 2 mm mesh for analysis. Was made the granulometric fractionation of organic carbon (Cambardella e Elliott, 1992). A Shimadzu elemental analyzer was used to determination of the total organic carbon (TOC), particulate organic matter carbon (POM-C), total nitrogen (TN) and particulate organic matter nitrogen (POM-N).

### **3.3.13 Microbiome**

Total DNA was isolated from  $\leq 0.25$  g of each soil sample using a Power Soil DNA Isolation Kit (MoBio Laboratories, Carlsbad, CA, USA) according to the manufacturer's instructions. The DNA was stored at -20 °C until use.

Total DNA purity and concentration were determined with a NanoDrop Lite Spectrophotometer (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA). Integrity was evaluated by migrating a 6  $\mu$ L DNA aliquot electrophoretically (30 min at 90 V) in agarose gel (0.8% agarose 1X TBE) stained with Blue Green Loading Dye I (LGC Biotecnologia, Cotia, São Paulo, Brazil). Total DNA was also quantified with a Qubit<sup>®</sup> 2.0 fluorometer and a dsDNA BR assay kit (Invitrogen<sup>™</sup>). Bacterial and archaeal 16S rRNA genes were amplified using the primers 515F (5'-GTGCCAGCMGCCGCGTAA-3') and 806R (5'-GGACTACHVGGGTWTCTAA T-3') and sequenced on the Ion Torrent<sup>®</sup> (PGM) platform (Life Technologies,

Carlsbad, CA, USA). Amplicons containing the adaptors and twelve-base barcode sequences were purified using AMPure beads (Beckman Coulter) according to the manufacturer's instructions. Emulsion PCR was performed with the Ion OneTouch 2™ and an Ion Template PGM™ OT2 400 Kit (Life Technologies) according to the manufacturer's instructions. The amplicon libraries were sequenced on an Ion 318 Chip Kit v2 with the Ion Torrent® (PGM) system according to the supplier's instructions. All readings were filtered with the PGM software to remove low-quality and polyclonal sequences.

### **3.3.14 Sequence processing for downstream analyses and statistical analysis**

FastQ files exported from the Ion PGM™ System were analyzed following the recommendations of the Brazilian Microbiome Project (Pylro et al., 2014). An OTU (operational taxonomic unit) table was built using the UPARSE pipeline (Edgar, 2013) in which the readings were truncated at 200 bp and quality-filtered with a 0.5 maximum expected error. Filtered readings were dereplicated and singletons were removed. The sequences were clustered into OTU with a similarity threshold of 97%. Chimeras were checked to obtain representative sequences for each microbial phylotype. Taxonomy was classified in QIIME (Caporaso et al., 2010) based on the UCLUST method against the Greengenes 13.5 database (McDonald et al., 2012) with an 80% confidence threshold. Microbial diversity was evaluated with the Shannon diversity index.

Microbiological soil attributes were subjected to ANOVA according to the experimental design. Statistical analysis was applied to each of the parameters studied. When the *F*-test was significant ( $p = 0.05$ ), the parameters were compared using Tukey's test ( $\alpha < 0.05$ ). Pearson's correlation coefficients were calculated for all biochemical, physical, and microbiological attributes of the soil.

### **3.4 Results**

#### **3.4.1 Microbial biomass carbon (MBC), microbial biomass nitrogen (MBN), and basal respiration**

Soil managements like the conventional and pre-germinated systems, which involve annual preparation, presented lower microbial carbon and nitrogen levels than those of the no-tillage system (Fig. 1A). The MBC ranged from 165-278 mg kg<sup>-1</sup>. MBC were 68% and 40% higher in NT than in PG and CT, respectively. The MBN varied from 4.7-8.9 mg kg<sup>-1</sup> and were 89% and 74% higher in NT than in PG and CT, respectively. Similar results were obtained for the basal respiration. Microbial respiration in the NT system was significantly higher than those in PG and PC (Fig. 1B).

#### **3.4.2 Extracellular enzymes**

Overall, EE activity was affected by soil management type (Fig. 2). The average EE activity was higher in NT than CT and PG. In the three years of sampling (2014-2016) CT and PG indicated that both management systems had similar extracellular microbial activity levels. EE tended to vary directly with microbial biomass.  $\beta$ -glucosidase, urease, and phosphatase activities were positively correlated with total and particulate organic carbon and nitrogen (Table 1). On the other hand, esterase activity (FDA) was not correlated with soil carbon or nitrogen content (Table 1). In general, enzyme activities were significantly higher under NT than the other soil managements. EE activity was low in January 2016, however, due to soil flooding, but levels significantly increased by March of that year.

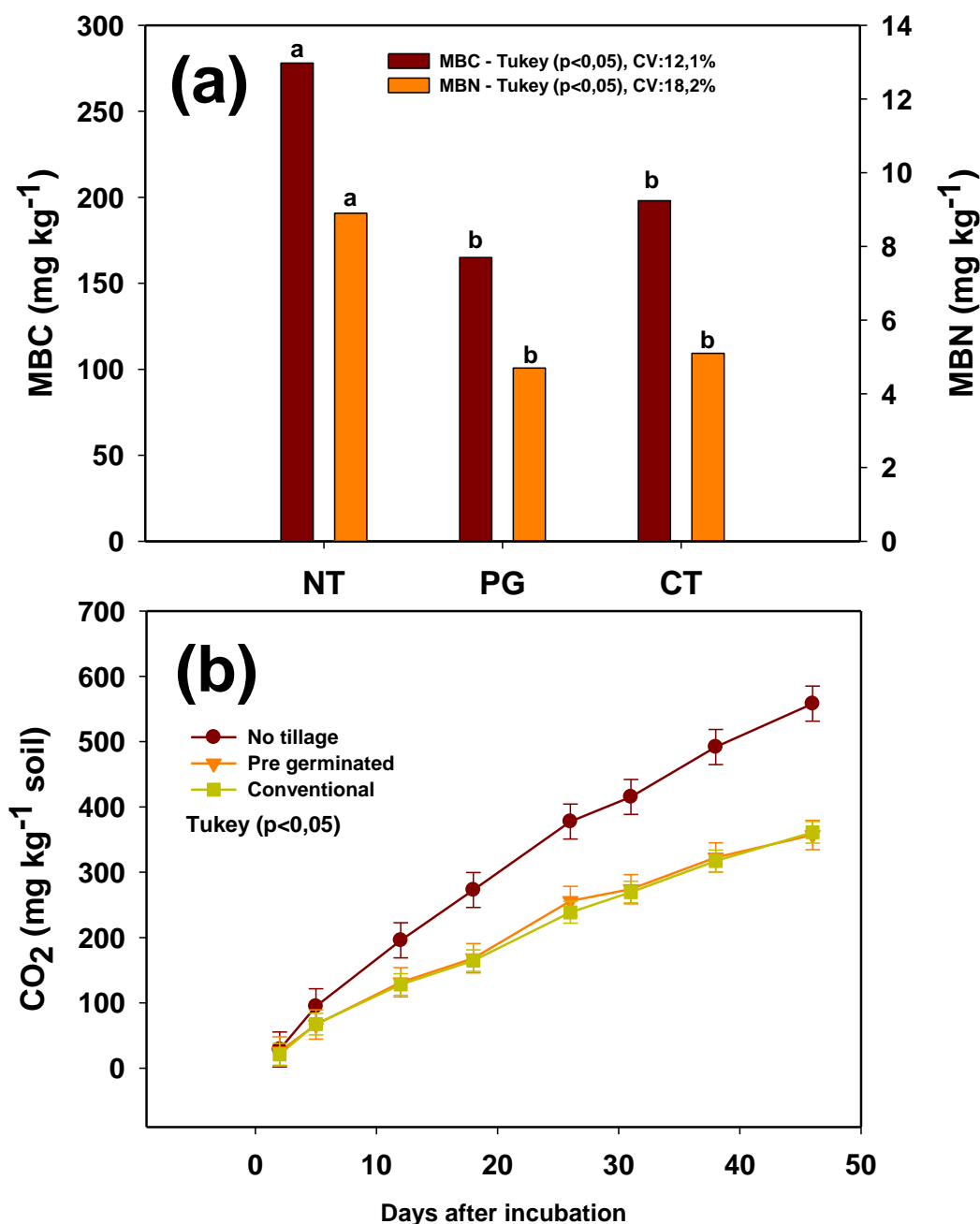


Figure 1. Microbial biomass carbon (MBC) and microbial biomass nitrogen (MBN) (a) and basal respiration (b) evaluated in a Entisol under different management systems: no tillage (NT), pregerminated (PG) and conventional tillage (CT). The carbon concentration (MBC) and nitrogen (MBN) were obtained from the arithmetic mean of three samples taken in September 2014, April 2015 and September 2015. Vertical bars indicate least significant difference (lsd). Different letters indicate a significant difference at  $P < 0.05$ .

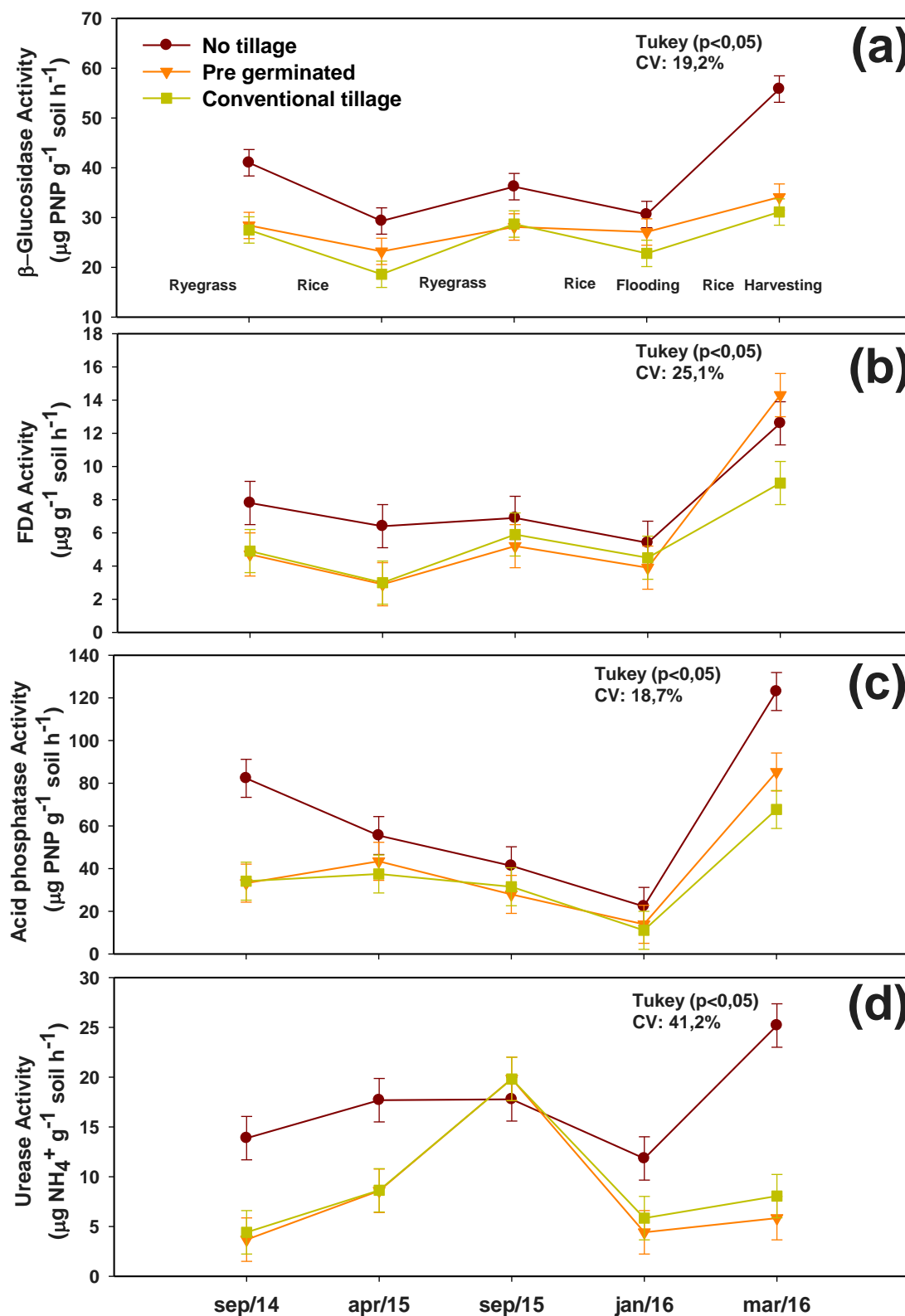


Figure 2. Activity of  $\beta$ -Glucosidase (a), esterase (FDA) (b), acid phosphatase (c) and urease (d) in a Entisol under different management systems. (●) no tillage, (▼) pre germinated and (■) conventional tillage. Assessments in September 2014, April 2015, September 2015, January 2016 and March 2016. Vertical bars indicate least significant difference (Lsd). Tukey test ( $p<0,05$ ).

### 3.4.3 Physical attributes of the soil

NT, PG, and CT all had long-term impacts on physical soil properties in the 0-5 cm layer. The soil macroporosity and total porosity of the 0.5 cm layer were higher under NT than CT or PG (Fig. 3). The macroporosity of the superficial layer in NT was 42% and 112% higher than those of PG and CT, respectively. The total porosity under no-tillage was 19% and 14% higher than those of the pre-germinated and conventional management systems, respectively (Fig. 3).

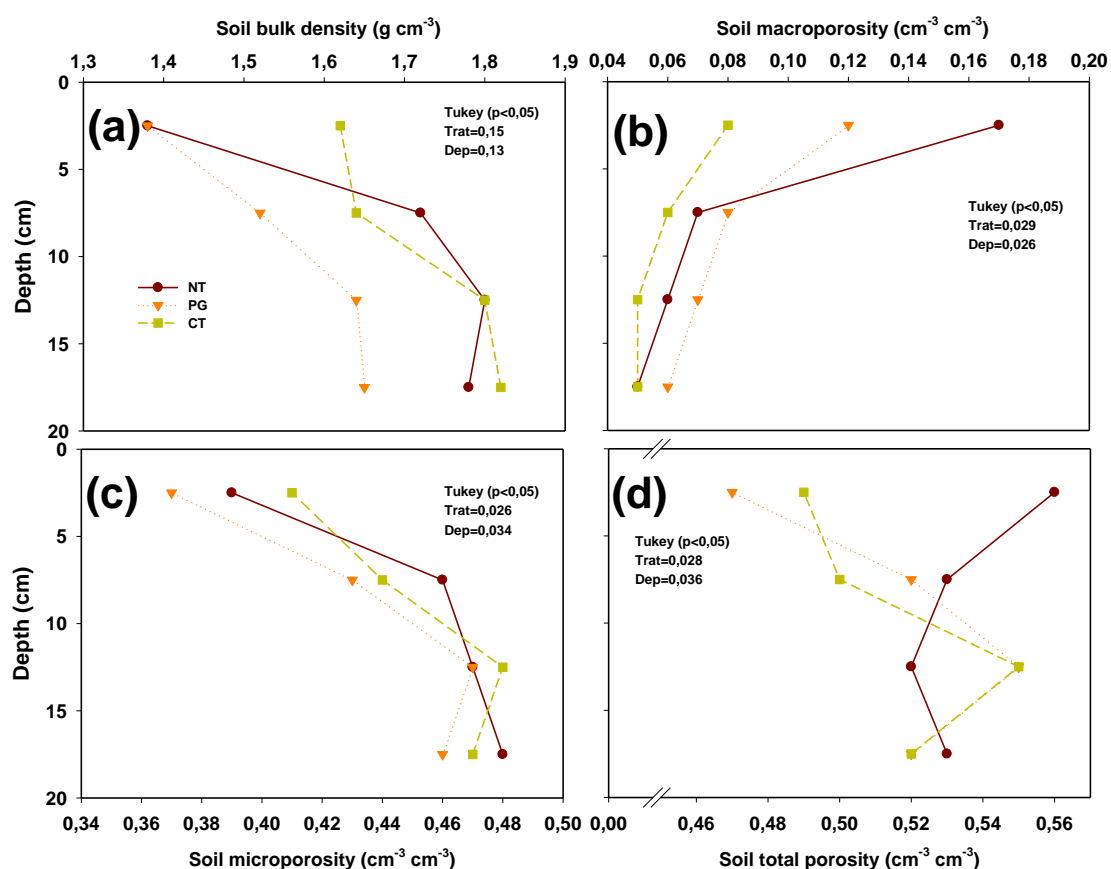


Figure 3. Bulk density (a), macroporosity (b), microporosity (c) and total porosity (d) of soil under (●) no tillage, (▼) pre germinated and (■) conventional tillage cultivated with rice for long term. Tukey ( $p < 0,05$ ).

### 3.4.4 Soil bacterial composition and diversity

Microbial diversity was assessed by next-generation sequencing (NGS) of the 16S rRNA gene. After quality filtering, 21,650 sequences were obtained. There was an average of 3,600 sequences (minimum length: 200 bp;

maximum expected error: 0.5). Good's coverage index indicated that we captured 93-95% of all OTU in the soil samples. The overall taxonomic composition summarized to the phylum level is presented in Fig. 4. Twelve phyla were found in the soil samples, of which *Proteobacteria*, *Acidobacteria*, *Bacteroidetes*, and *Verrucomicrobia* were the most abundant in all treatments. Soil treatment had no significant effect on the abundance of the phyla. On the other hand, in NT, there was a reduction in microbial diversity at the OTU level (97% similarity cutoff) as measured by the total number of observed OTU and the Shannon diversity index (Fig. 5). The PG system had an intermediate level of microbial diversity. The conventional system had the highest microbial diversity of all treatments.

To understand the effects of soil management on microbial diversity, we grouped the soil samples by total organic carbon level. Two classes were formed (12-15 g kg<sup>-1</sup> and 16-27 g kg<sup>-1</sup>) and microbial diversity was recalculated (Fig. 6). The number of OTU and the Shannon diversity index increased as the total organic carbon level decreased.

Cluster analysis showed no significant differences in the soil microbial structure of the management systems tested in this study (Fig. 7). A significant inverse proportionality was observed between the Shannon diversity index and total organic carbon (TOC), total organic nitrogen (TON), particulate organic nitrogen (PON),  $\beta$ -glucosidase, phosphatase, microbial biomass carbon (MBC), and microbial biomass nitrogen (MBN). The data indicate that there were increases in the amounts of total organic carbon, total organic nitrogen, soil microbial biomass, EE activity, and basal respiration, but a decrease in microbial diversity (Table 1).

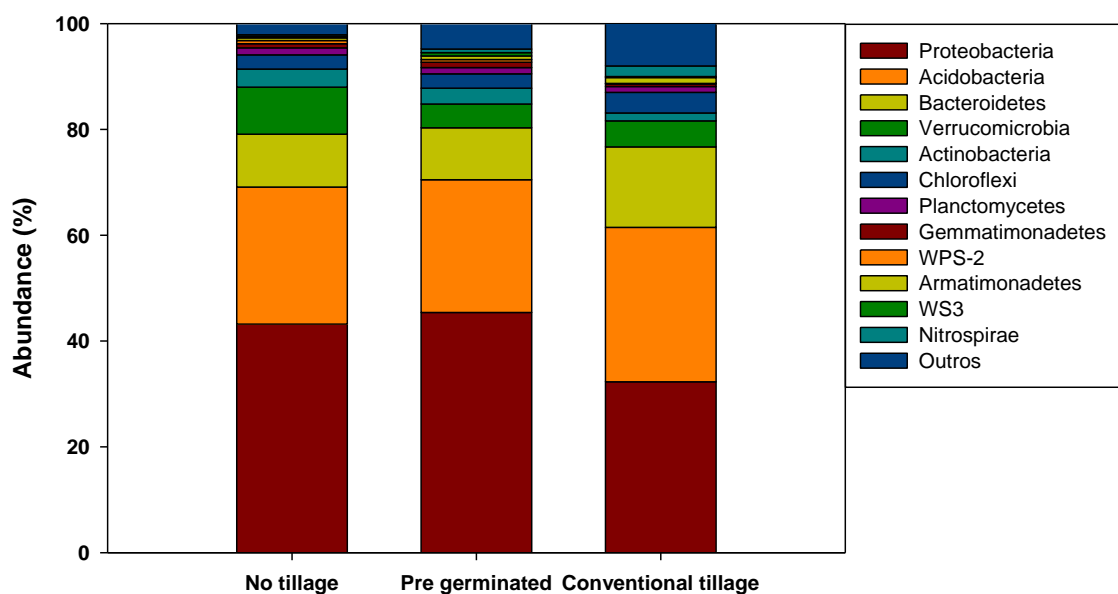


Figure 4. Impact of long-term different soil management systems on the bacterial community of Entisol cultivated with rice. Relative abundance of the dominant phyla. No tillage, pre-germinated and conventional tillage in Entisol under long-term rice cultivation.

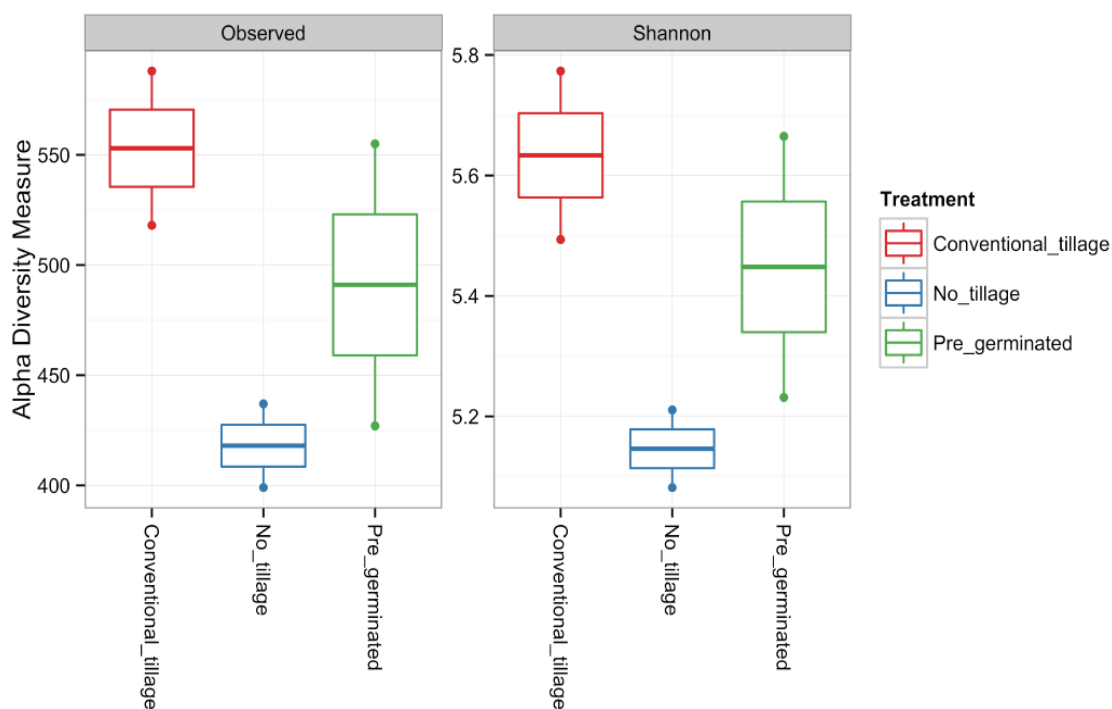


Figure 5. Diversity of soil species by Alpha and Shannon indexes. Classes of different soil management practices. No tillage, conventional tillage and pregerminated in Entisol under rice cultivation for long term. Vertical bars indicate standard deviation.



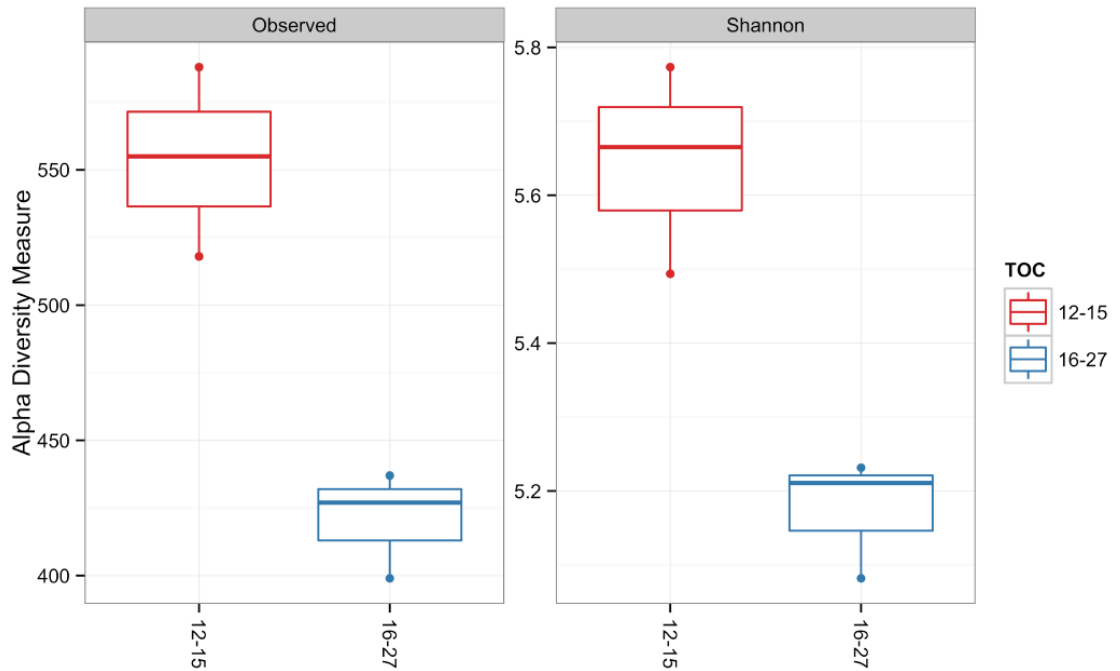


Figure 6. Alpha diversity of soil species in classes of different levels of total organic carbon in Entisol under long-term rice cultivation. Vertical bars indicate standard deviation.

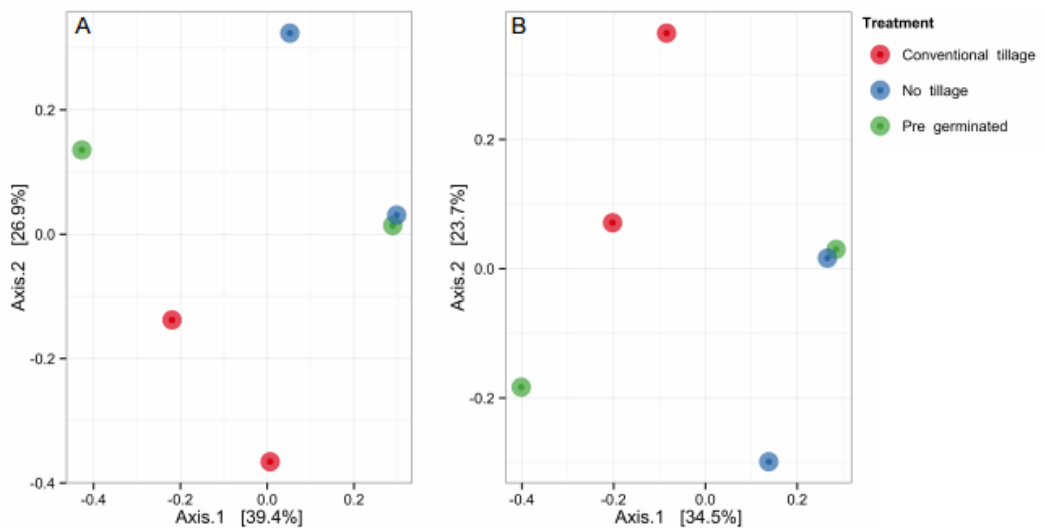


Figure 7. PCoA in Entisol under no tillage, pre germinated and conventional tillage cultivated with irrigated rice for long-term.

Table 1. Simple correlations (r) between properties of soil under different management systems: no-till, pre-germinated and conventional tillage.

	Shan	TOC	POM-C	TN	POM-N	$\beta$ -Glu	FDA	Urease	Phosph	MBC	MBN	C-CO <sub>2</sub>	Macro	Micro	Tot-por
TOC	-0.81**														
POM-C	-0.62	0.85**													
TN	-0.81**	0.99**	0.84**												
POM-N	-0.72*	0.81**	0.73*	0.84**											
$\beta$ -Glu	-0.90**	0.86**	0.60	0.88**	0.80**										
FDA	0.03	0.02	0.39	0.05	0.12	0.03									
Urease	-0.65	0.80**	0.65	0.85**	0.93**	0.84**	0.11								
Phosph	-0.91**	0.88**	0.78*	0.89**	0.89**	0.90**	0.21	0.85**							
MBC	-0.75*	0.95**	0.77*	0.95**	0.84**	0.79*	-0.05	0.80*	0.84**						
MBN	-0.74*	0.95**	0.94**	0.95**	0.86**	0.80**	0.28	0.83**	0.89**	0.88**					
C-CO <sub>2</sub>	-0.61	0.76*	0.74*	0.80**	0.95**	0.67*	0.15	0.89**	0.85**	0.84**	0.81**				
Macro	-0.56	0.74*	0.91**	0.77*	0.79*	0.66	0.53	0.79*	0.81**	0.67*	0.89**	0.81**			
Micro	0.27	0.13	0.04	0.12	0.08	-0.08	-0.33	0.20	-0.18	0.08	0.13	0.04	-0.04		
Tot-por	-0.22	0.63	0.69*	0.65	0.64	0.42	0.15	0.72*	0.47	0.54	0.74*	0.62	0.70*	0.68*	
Dens	0.71*	-0.43	-0.50	-0.44	-0.44	-0.57	-0.49	-0.36	-0.73*	-0.37	-0.47	-0.44	-0.58	0.75*	0.11

Shan: diversity index; TOC: total organic carbon; POM-C: particulate organic matter carbon; TN: total nitrogen; POM-N: particulate organic matter nitrogen;  $\beta$ -Glu:  $\beta$ -glucosidase activity; FDA: fluorescein diacetate; Phosph: acid phosphatase activity; MBC: microbial biomass carbon; MBN: microbial biomass nitrogen; C-CO<sub>2</sub>: basal respiration; Macro: macroporosity; Micro: microporosity; Tot-por: total porosity and Dens: density of soil.

\*\* Significant at the 1% level (bilateral).

\* Significant at the 5% level (bilateral).

### 3.5 Discussion

NT increases microbial biomass, total organic carbon (TOC) and total organic nitrogen (TON) compared to other soil management practices (Table 1) (Balota et al., 2014c). Other long-term studies found significant increases in MBC under the NT system (Heinze et al., 2010; Stockfisch et al., 1999). The increase in microbial carbon may be explained by the fact that labile carbon fractions which are readily available sources of energy and nutrients for the soil microbial community under NT (Fig. 1, Table 1) (Babujia et al., 2010; Franchini et al., 2007).

In general, soils under NT present higher MBC and lower qCO<sub>2</sub> than those under CT (Balota et al., 2014c). An inverse correlation between MBC and qCO<sub>2</sub> was also demonstrated in other studies (Ferreira et al., 2009; Franchini et al., 2007). On the other hand, in this study, the increase of microbial biomass was reflected in the increase of the enzymatic activity evaluated in this work.  $\beta$ -glucosidase, esterase (FDA), acid phosphatase, and urease degrade compounds that are easy to decompose like simple sugars, proteins, fats, organic phosphates, and small nitrogenous molecules (Fig. 2, Table 1) (Burns et al., 2013). However, these enzymes do not have large abilities to degrade larger complex stable compounds such as humic substances, which constitute relatively high proportions of the total soil organic carbon. No-tillage cultivation can increase soil carbon content and enzymatic activity (Fig. 2), so it can mineralize labile substances and make them available to plants (Pandey et al., 2014).

$\beta$ -glucosidase participates in the carbon cycle (Burns et al., 2013), indirectly indicates carbon mineralization, and quantifies labile carbon incorporation in soil (Marxsen et al., 2010). It also releases glucose, which is an important energy source for microorganisms (Bugg et al., 2011). The high biomass content in NT soil results in elevated MBC and MBN which, in turn, induce  $\beta$ -glucosidase activity (Pandey et al., 2014).

In the NT system of the present study, increases in the labile soil carbon fractions resulted in increased lipid and protein content and, consequently, esterase activity (FDA), which hydrolyzes proteases, lipases, esterases, and other enzymes (Adam and Duncan, 2001). FDA indicates soil bacterial and fungal activity and is, therefore, correlated with microbial biomass (Adam e Duncan, 2001; Wang e Lu, 2006).

NT can significantly increase organic phosphates. These forms of phosphorus constitute 5-50% of the total amount of this element in the soil (Balota et al., 2014c). The organic P fraction is essential for microorganism and plants nutrition. Microbes dephosphorylate substrates by producing organic phosphorus compounds. In this way, microorganisms participate in the early mineralization of soil organic carbon (Burns et al., 2013). In NT systems, then, the soil is rich in organic phosphorus, so phosphatase activity increases (Fig. 2). Acid phosphatase activity is an indicator of soil P deficiency (Nannipieri et al., 2011). Under low P concentrations, microorganisms and plant roots synthesize phosphatase to enhance the solubility of solid P fractions in the soil (Alkorta et al., 2003). Phosphate fertilization helps reduce soil acid phosphatase activity (Pandey et al., 2014). This enzyme is usually more active than it actually was in our experiment. In NT, the increased levels of carbon and humic substances along with clay may have formed complexes with phosphorus that were resistant to acid phosphatase activity (An et al., 2015).

In this study, large amounts of plant biomass were detected on the soil surface during the harvests in March 2016. Soil microbial activity increases significantly at harvest time because the abundance of plant biomass provides energy for soil microbes (Fig. 2). In general, both microbial and EE activity increase at harvest time. In the present study, measurements taken in March 2016 indicates peaks in microbial and enzymatic activity because sampling was

performed one week after harvest. In April 2015, however, the soil was sampled 30 d after harvest. The incorporation of crop residues stimulates the activity of  $\beta$ -glucosidase (Fig. 2), which is significantly influenced by plant residue quantity and quality, plant growth, root exudates, and soil environmental conditions (Peregrina et al., 2014).

Since tillage in the CT and PG systems increases the contact surface area between soil microbes and plant residues, it should also enhance soil microbial activity. Nevertheless, the data showed that both microbial biomass (Fig. 1) and activity were higher in NT than CT or PG. Microbial biomass increased under NT (Fig. 1) possibly because this treatment had the largest carbon stocks (Balota et al., 2014a). In order to maintain the microbial community, this additional biomass also requires more nutrients. Since the metabolic rate is accelerated in NT, its nitrogen demand increases and, consequently, more urease must be produced (Fig. 2) (Burns et al., 2013).

The proportions of most microbial phyla were similar in long-term soil management. The phyla *Proteobacteria*, *Acidobacteria*, *Bacteroidetes*, *Verrucomicrobia*, and *Actinobacteria* constituted the highest percentages in the soil (Fig. 4). Other studies have indicated that the same phyla occur in the greatest abundance in agricultural soils (Chen et al., 2016) and irrigated rice paddies (Li et al., 2016). In this experiment, however, *Proteobacteria* decreased and *Bacteroidetes* increased in CT relative to the levels of these genera found in NT and PG (Fig. 4).

Soil management affects the taxonomic diversity of soil microbiota (Fig. 5) mainly by influencing soil carbon content (Fig. 6). Minimizing tillage in the NT system reduces soil disturbance, labile carbon exposure and oxidation (Bayer et al., 2004). The resultant increases in carbon availability influences the soil microbial community since organic carbon is the main nutrient and energy source for soil microbiota. Increases in bioavailable organic carbon liberate energy and nutrients for microbiota living in nutritionally poor environments (Zhang et al., 2015). Macroporosity and total porosity of the superficial (0-5 cm) soil layer were significantly higher in no-tillage systems than those in other treatments (Fig. 3). Soil porosity directly affects the dynamics of water and gas ( $O_2$  and  $CO_2$ ) exchange, which, in turn, influence soil microbial activity (Table 1).

Biochemical and physical factors have an impact on soil bacterial diversity (Table 1) and may also indirectly affect the soil microbial community profile (Long et al., 2013). Increases in soil TOC may favor the proliferation of highly resilient bacteria (Griffiths and Philippot, 2013) that are very efficient at obtaining energy and nutrient sources and can produce secondary metabolites antagonistic to other bacterial species (Long et al., 2013).

On the other hand, no-tillage promotes soil aggregation (Castro Filho et al., 2002) and contributes to the increase of fungi (Jiang et al., 2011). They are highly resistant to soil disturbances (de Vries et al., 2012; Orwin et al., 2006) and compete against bacteria for the same soil microsites and substrates (Mille-Lindblom et al., 2006). The most abundant fungal populations in the no-tillage system could suppress certain bacterial species and, therefore, reduce bacterial diversity.

The no-tillage system increases the content of carbon derived content from the aerated fractions of the surface soil. This effect impacts soil microbial community dynamics, creates conditions conducive to the proliferation of better-adapted bacterial species, and reduces soil microbial diversity. The no-tillage system changes soil physics and chemistry in such a way as to increase EE activity and basal respiration. These responses may be explained by the fact that NT enhances the biomass of a microbial community consisting of a smaller number of species than those found in conventionally managed soils.

### **3.6 Conclusions**

Long-term irrigated rice cultivation under NT increases the activity of  $\beta$ -glucosidase, urease, acid phosphatase, and esterases in soil, in most seasons of the year. On the other hand, the NT causes a reduction in the diversity of the microbial community of soils compared to conventional and pre-germinated systems.

The increase in soil carbon decreases taxonomic microbial diversity by profoundly altering carbon content and other factors in the microenvironment and favoring the growth of microorganisms adapted to the new environmental conditions.

## **4 CAPÍTULO 3 – ESTUDO 2: ESTOQUES DE CARBONO, NITROGÊNIO E PRODUTIVIDADE DE ARROZ IRRIGADO SOB DIFERENTES MANEJOS DO SOLO POR LONGO PRAZO**

### **4.1 Resumo**

A implantação da semeadura direta é um grande desafio em áreas cultivadas com arroz irrigado, devido à condição de hidromorfismo dos solos. A redução do preparo altera vários atributos do solo, resultando em significativa mudança nos estoques de carbono e nitrogênio. Nesse sentido, esse trabalho teve como objetivo avaliar os estoques de carbono e nitrogênio e suas frações no solo, e a evolução da produtividade de arroz irrigado cultivado em Gleissolo Háplico por longo prazo (1994/95 a 2016/17) sob diferentes manejos do solo. Os tratamentos utilizados são três sistemas de manejo do solo para a cultura do arroz irrigado: semeadura direta, convencional e pré-germinado com cultivo de azevém no período de outono-inverno. As amostras de solo foram coletadas a campo, estratificadas, na profundidade de 0-40 cm, na primavera de 2015 após o cultivo de azevém (*Lolium multiflorum*) no outono-inverno. Após 20 anos, a semeadura direta aumentou os teores de carbono e de nitrogênio na camada mais superficial de solo (0-5 cm) e aumentou os estoques de carbono e nitrogênio em relação aos sistemas convencional e pré-germinado. Com relação a produtividade, observou-se nos primeiros 10 anos de avaliação que em três anos agrícolas a produtividade do arroz foi menor em relação ao sistema convencional e, em oito anos, foi inferior à obtidas no sistema pré-germinado. A partir do ano agrícola 2008/09, observou-se que similaridade na produtividade da semeadura direta comparada aos demais manejos do solo. Dessa forma, a semeadura direta em solos cultivados com arroz irrigado por longo prazo é uma alternativa para o

aumento dos estoques de carbono e nitrogênio, contudo, não resulta em maior produtividade.

**Palavras chave:** *Oryza sativa*, semeadura direta, terras baixas.

## 4.2 Introdução

O arroz é a segunda cultura em produção e área cultivada no mundo, ficando somente atrás do trigo (SOSBAI, 2016). Atualmente são produzidas no mundo cerca de 685 milhões de toneladas em uma área total de 158 milhões de hectares (IRRI, 2016). O arroz é a base nutricional de cerca de três bilhões de pessoas, sendo cultivado em todos os continentes, com destaque para a Ásia, que concentra cerca de 90% da produção mundial do grão, seguido pelo continente americano, com cerca de 6% (SOSBAI, 2016).

No Brasil, são cultivados cerca de 2,4 milhões de hectares, em dois tipos de cultivos, o arroz irrigado por inundação em ambientes de terras baixas e o de sequeiro cultivado em terras altas (SOSBAI, 2016). O Estado do Rio Grande do Sul (RS) possui 5,4 milhões de hectares de terras baixas (Streck et al., 2008). Desse total, 3,0 milhões de ha possuem infraestrutura para o cultivo de arroz irrigado, dos quais são cultivados anualmente cerca 1,1 milhão de hectares de arroz e 300 mil hectares de soja. O Estado do RS utiliza o sistema de cultivo com irrigação por inundação e possui produtividade média de 7,80 Mg ha<sup>-1</sup>, sendo bem superior à média de 2,00 Mg ha<sup>-1</sup> das lavouras de sequeiro no centro do país (SOSBAI, 2016).

O cultivo de arroz irrigado no Rio Grande do Sul teve uma evolução significativa na redução de preparo do solo nos últimos 20 anos (SOSBAI, 2016). Na década de 90, o preparo convencional, com operações de grade, arado e plaina, era utilizado em 75% das lavouras do Estado. No entanto, houve uma transição e atualmente cerca de 60 % das áreas são conduzidas sob cultivo mínimo, onde não se realiza operações com arado que promoveria maior mobilização do solo (SOSBAI, 2016). Essa evolução de redução de preparo do solo foi importante, visando maior rapidez de preparo do solo e redução de custos com mão de obra, máquinas e óleo diesel.

Além de causar impactos no solo, o preparo do solo é uma atividade que ocupa parte importante do calendário das propriedades orizícolas. É fundamental que essa etapa seja efetuada no verão ou outono, pois possibilita que maiores percentuais de semeadura de arroz sejam realizados na época preferencial (Menezes et al., 2012). Contudo, percentuais significativos das áreas são preparadas e finalizadas no inverno e início da primavera. Nesses períodos, geralmente há grande incidência de precipitações pluviais no Sul do Brasil, especialmente em anos de *El Niño*. Nessas condições, o atraso do preparo do solo pode retardar a semeadura do arroz e, conseqüentemente, reduzir seu potencial produtivo (Menezes et al., 2012).

Nas áreas de terras baixas cultivadas com arroz irrigado predominam solos hidromórficos, devido a topografia predominantemente plana e a presença de um horizonte B com alta quantidade de argila, que reduz acentuadamente a condutividade hidráulica e possibilita o uso desses solos para o cultivo da cultura do arroz irrigado (Streck et al., 2008; Rosa et al., 2011). O solo fica em condições reduzidas durante a irrigação por alagamento da cultura que dura de 90 a 100 dias e, no período do inverno, frequentes inundações do solo ocorrem devido ao grande volume de precipitação. Essas condições de hipóxia afetam diretamente a população microbiana do solo e as reações químicas, com reflexos diretos na dinâmica do carbono no solo. Sob condições de anaerobiose, predominam no solos microrganismos anaeróbios e anaeróbios facultativos que mineralizam lentamente os compostos orgânicos do solo, além de gerar produtos finais que possuem maior energia do que os gerados a partir da mineralização aeróbia (Ponnamperuma, 1972).

A perturbação ocasionada pelo preparo afeta diretamente os atributos físicos, químicos (Busari et al., 2015) e microbiológicos do solo (Balota et al., 2011). O preparo convencional geralmente causa o rompimento da rede de micélios devido a destruição dos macroagregados por ocasião da intervenção mecânica (Borie et al., 2006), diminui o conteúdo de carbono orgânico do solo (COS), biomassa microbiana e atividade da fauna (Curaqueo et al., 2011; Mikha and Rice, 2004; Sainju et al., 2009).

Práticas conservacionistas de cultivo como mínimo distúrbio do solo e retenção de resíduos são opções economicamente e ecologicamente mais



viáveis para a produção agrícola e sequestro de carbono (Zanatta et al., 2007). Por outro lado, o cultivo intensivo, remoção de resíduos, as práticas de queima de resíduos vegetais aceleram a erosão, poluição ambiental, degradação do solo (Montgomery, 2007) e afetam as funções dos ecossistemas (Srinivasan et al., 2012). Assim, a adoção de práticas de cultivo racionais como a reciclagem de resíduo das culturas (Aoyama et al., 1999; Blair et al., 2006) e o manejo conservacionista (Gale e Cambardella, 2000; Six et al., 2000) são necessários para melhoria da qualidade do solo e do ecossistema.

O manejo do solo tem impacto direto nas frações lábeis de carbono e nitrogênio (Assmann et al., 2014) e o uso da semeadura direta em solos cultivados com arroz irrigado é um manejo que contribui para o incremento de frações lábeis, principalmente na camada superficial (Nascimento et al., 2009; Rosa et al., 2011). Para avaliar essas mudanças, o índice de manejo de carbono (IMC) é um importante indicador do impacto do manejo de sistemas de manejo de longo prazo no equilíbrio do solo-planta-atmosfera (Diekow et al., 2005). Experimentos que avaliam o efeito de manejos conservacionistas de mínimo revolvimento por longo prazo em áreas de terras baixas cultivados com arroz irrigado são escassos na literatura e pouco é elucidado sobre os estoques de carbono e a produtividade de arroz irrigado por um longo período.

Assim, sob diferentes condições de manejo do solo por longo prazo, espera-se que o manejo conservacionista aumente os estoques de carbono e nitrogênio, as formas lábeis desses elementos, o IMC e a produtividade de arroz irrigado. Dessa forma, o objetivo desse trabalho foi determinar os teores e estoques de C e N e suas frações, IMC e a produtividade de grãos de arroz irrigado cultivado por longo prazo em um Gleissolo Háplico sob diferentes manejos do solo.

### **4.3 Material e métodos**

#### **4.3.1 Condições experimentais**

O protocolo experimental foi estabelecido no ano agrícola 1994/95 na Estação Experimental, do Instituto Rio Grandense do Arroz, no município de Cachoeirinha (RS), Rio Grande do Sul. As coordenadas geográficas do local são

29°57'02" W, 51°05'02" O e 7 m, respectivamente. O experimento vem sendo conduzido em um Gleissolo Háplico Distrófico típico (Streck et al., 2008), com textura franca. A caracterização química do solo da área, amostrada em 2005, é apresentada na Tabela 2.

Tabela 2. Caracterização química do protocolo experimental em 2005.

Atributo	MO <sup>1</sup>	pH	P <sup>2</sup>	K <sup>2</sup>	Ca <sup>3</sup>	Mg <sup>3</sup>
Camada	g kg <sup>-1</sup>		mg dm <sup>-3</sup>	mg dm <sup>-3</sup>	cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>	cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>
0-20 cm	17	5,3	14,3	41,8	3,5	1,1

<sup>1</sup> Matéria orgânica (Walkley-Black); <sup>2</sup> Potássio e fósforo disponíveis (Mehlich-1); <sup>3</sup> Cálcio, magnésio e alumínio trocáveis (KCl 1 mol L<sup>-1</sup>).

Os tratamentos consistiram de três diferentes sistemas de manejo do solo: I) Semeadura direta: caracterizado pela mínima mobilização do solo no sulco de semeadura, suficiente apenas para disposição da semente. II) Pré-germinado: caracterizado pela implantação de sementes de arroz germinadas na superfície do solo previamente alagado, de 20 a 30 dias antes do plantio. Esse sistema caracteriza-se pelo grande número de operações de preparo do solo, superior ao convencional, utilizando ainda enxada rotativa e III) Convencional: caracterizado pela mobilização com grade e aplainamento do solo. Esse manejo se faz no final do verão/outono (cultivo mínimo) ou no inverno e primavera (convencional) (SOSBAI, 2016). Em determinados anos agrícolas nesse experimento foi feito o preparo antecipado (cultivo mínimo), contudo para uniformização da discussão no presente estudo será atribuído como convencional.

#### 4.3.2 Adição de resíduos

Para as determinações de produção de resíduos do arroz, foi mensurado em março de 2016 a quantidade de matéria seca após a colheita com quatro amostras de 1m<sup>2</sup> por parcela. Pelas amostragens se obteve um índice de colheita próximo a 0,5 (1 kg de grãos para cada 1 kg<sup>-1</sup> de resíduo). Esse índice foi utilizado para o cálculo dos resíduos da parte aérea desde o ano agrícola 1994/95 por meio do índice de colheita 0,5 e da produtividade obtida em

cada ano agrícola. Para estimativa de massa de raízes de arroz, estimou-se em 30% (Holzschuh et al., 2009) da quantidade de matéria seca da parte aérea. Para determinação da quantidade de resíduos de azevém foi feita uma média a partir de seis sub-amostras em cada parcela nos invernos de 2014 e 2015. Para cálculo da massa de raízes de azevém utilizou-se 30% da massa da parte aérea.

Após a secagem, as adições de C via resíduos vegetais foram calculadas como uma função da matéria seca da parte aérea adicionada ao solo (azevém+ arroz), considerando-se uma concentração média de cerca de 45 % de C (Assmann et al., 2017) nos grãos de arroz e nos resíduos de arroz e azevém. Os teores médios de N para os resíduos da parte aérea e de raízes de azevém e para os resíduos de parte aérea e de raízes de arroz foram de, respectivamente, 19,16;19,16; 12,50 e 14,20 g kg<sup>-1</sup>.

#### **4.3.3 Amostragem do solo e estoques totais de C e N**

O solo foi amostrado em março de 2015, vinte anos após a instalação do experimento. Os teores de C e N foram analisadas em oito camadas de solo: 0 a 2,5; 2,5 a 5; 5 a 7,5; 7,5-10; 10 a 15; 15 a 20; 20 a 30, e 30 a 40 cm. As amostras de solo resultaram em oito sub-amostras por parcela experimental em todas as repetições de campo. Além disso, com objetivo de comparar os manejos do solo com áreas de referência sem agricultura, em março de 2015, foi coletado solo também em uma mata nativa (MN) e uma área de pastagem nativa (PN) próximas. O solo foi seco (45°C) e tamisado em malha de 2 mm para análise. Para os cálculos de estoques, a densidade do solo foi determinada utilizando anéis volumétricos com 160 cm<sup>3</sup>. Estas densidades são apresentados na Tabela 3.

#### **4.3.4 Estoques de carbono e nitrogênio, fracionamento físico e índice de manejo de carbono**

O fracionamento granulométrico do carbono orgânico utilizou 20 g de solo que foi pesado e colocado frascos do tipo *snap-cap* de volume de 180 ml, e adicionado 80 mL de hexametáfosfato de sódio (5 g L<sup>-1</sup>) (Cambardella e Elliott,

1992). As amostras foram agitadas horizontalmente agitada durante 16 h. A suspensão de solo foi então passada através de uma malha de 53  $\mu\text{m}$ , com o auxílio de água. O solo que permaneceu na peneira foi seco até peso constante a 50°C e moído com um almofariz de ágata, posteriormente pesado e encaminhado para determinação do teor de carbono orgânico particulado (COP). O carbono associada aos minerais (CAM) resultou da diferença entre o carbono orgânico total (COT) e do carbono orgânico em partículas (COP). Relações semelhantes foram feitas com nitrogênio total, nitrogênio associada à mineral (NAM) e nitrogênio orgânico particulado (NOP). Um analisador elementar Schimadzu foi usado para as determinações de carbono e nitrogênio. Os estoques de COT, COP, CAM, NOT, NOP e NAM foram calculados em massa equivalente de solo (Sisti et al., 2004), utilizando-se a densidade do solo em cada camada e tratamento (Tabela 3), e a mata nativa e a pastagem nativa foram utilizados como solos de referência.

Tabela 3. Densidade do solo sob diferentes manejos e ecossistemas de referência (pastagem nativa e floresta nativa), setembro de 2014, Cachoeirinha, Brasil.

Camada (cm)	SD	PG	PC	PN	FN
	-----Mg m <sup>-3</sup> -----				
0,0-2,5	1,37	1,38	1,62	1,32	1,24
2,5-5,0	1,37	1,38	1,62	1,32	1,24
5,0-7,5	1,71	1,55	1,64	1,46	1,38
7,5-10	1,71	1,55	1,64	1,46	1,38
10-15	1,80	1,65	1,80	1,62	1,46
15-20	1,79	1,73	1,84	1,68	1,48
20-30	1,79	1,73	1,84	1,68	1,48
30-40	1,79	1,73	1,84	1,68	1,48

SD: semeadura direta, PG: pré germinado, PC: preparo convencional, PN: pastagem nativa e FN: floresta nativa.

O índice de manejo de carbono (IMC) e os seus componentes foram calculados (Blair et al., 1995) com algumas adaptações (Diekow et al., 2005). O IMC considera o COP como a fração lábil e o CAM como a fração não lábil. O IMC e seus componentes, índice de labilidade de carbono (ILC) e índice de estoque de carbono (IEC) foram calculadas para a camada de 0-40 cm, considerando a mata nativa como área referência (IMC = 100%).  $\text{IMC} = \text{IEC} \times \text{ILC} \times 100$ , em que,  $\text{IEC} = \text{tratamento COT/COT referência}$ ,  $\text{ILC} = \text{LC}$

tratamento/LC referência. Labilidade carbono (LC) foi calculado para a camada de 0-40 cm do solo, sendo a razão entre as frações lábeis de carbono e as não-lábeis, de acordo com a seguinte equação:  $LC = C \text{ lábil} / C \text{ não-lábil}$ , em que: C lábil = estoque de carbono orgânico particulado; C não lábil = estoque de carbono associada à fração mineral.

#### 4.3.5 Manejo do arroz irrigado

Os níveis de adubação e a aplicação de defensivos agrícolas utilizados no experimento foram similares para os três tipos de manejo de solo testados e foram aplicados de acordo com o potencial produtivo e as recomendações técnicas de manejo adotado para a cultura do arroz irrigado (SOSBAI, 2016). Na tabela 4 ilustra-se as quantidades de fertilizantes adicionados e as cultivares usadas no experimento desde o ano agrícola 1994/95.

Durante o inverno, a cobertura vegetal predominante foi o azevém (*Lolium multiflorum*), semeado a lanço no outono e estabelecendo-se até a primavera, quando as áreas eram dessecadas quimicamente cerca de 30 dias anteriormente a semeadura do arroz irrigado. Entre os anos agrícolas de 2009/10 e 2014/15 foi cultivada soja em rotação no experimento devido aos altos níveis de infestação de plantas daninhas, principalmente arroz vermelho (*Oryza sativa*).

As unidades experimentais consistiram de parcelas com 40 x 28 m. O delineamento experimental utilizado é blocos ao acaso com três repetições. A produtividade de arroz foi determinada ao longo dos anos de cultivo realizando-se a colheita de seis sub-parcelas de 4 m<sup>2</sup> por parcela. Posteriormente, a umidade dos grãos foi corrigida para 13% e descontada as impurezas.

Tabela 4. Cultivares e quantidade de N, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> e K<sub>2</sub>O utilizados anualmente no experimento desde o ano agrícola 1994/95.

Ano agrícola	Cultivar	preparo convencional			semeadura direta			pre germinado		
		N	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	K <sub>2</sub> O	N	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	K <sub>2</sub> O	N	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	K <sub>2</sub> O
-----Kg ha <sup>-1</sup> -----										
1994/95	BR IRGA 410	95	80	80	95	80	80	95	80	80
1995/96	BR IRGA 410	95	80	80	95	80	80	95	80	80
1996/97	BR IRGA 410	64	40	40	64	40	40	64	40	40
1997/98	BR IRGA 410	100	70	105	100	70	105	100	70	105
1998/99	BR IRGA 410	106	60	60	106	60	60	106	60	60
1999/00	BR IRGA 410	60	66	66	60	66	66	60	66	66
2000/01	BR IRGA 410	160	0	60	160	0	60	160	0	60
2001/02	IRGA 422 CL	140	60	90	140	60	90	140	60	90
2002/03	IRGA 422 CL	130	40	60	130	40	60	130	40	60
2003/04	IRGA 422 CL	145	60	90	145	60	90	120	60	90
2004/05	IRGA 417	135	60	90	135	60	90	135	60	90
2005/06	IRGA 417	135	60	90	135	60	90	135	60	90
2006/07	IRGA 422 CL	140	90	135	140	90	135	140	90	135
2007/08	IRGA 422 CL	120	40	90	120	40	90	120	40	90
2008/09	Puitá Inta CL	135	70	105	135	70	105	135	70	105
2009/10	Puitá Inta CL	150	50	75	150	50	75	150	50	75
2014/15	IRGA 424	166	68	108	166	68	108	166	68	108
2015/16	IRGA 424	166	68	108	166	68	108	166	68	108
Média	-	125	59	85	125	59	85	123	59	85

#### 4.3.6 Análises estatísticas

Para análise da variância (ANOVA) das variáveis do solo, foi usado o seguinte modelo:

(a) Efeito de manejo  $Y_{ij} = \mu + B_i + M_j + \text{error } a(i,j)$ ;

Onde  $\mu$  = média experimental geral; B=blocos (i=1,2,3);

M=Tipo de manejo (1,2,3,4,5); e erro (a)= erro experimental.

(b) Manejo e efeito de profundidade

$Y_{ijk} = \mu + B_i + M_j + \text{error } a(i,j) + D_k + \text{error } b(i,k) + GD(jk) + \text{error } c(i,j,k)$

Onde:

$\mu$  = média experimental geral

B=blocos (i=1,2,3);

M=Manejo (j=1,2,3,4,5);

D= camadas de solo (k=1,2,3,4,5,6,7,8) e a,b and c= erros experimentais.

Quando ANOVA foi significativo ( $p < 0,05$ ), foi aplicado o teste de tukey ( $p < 0,05$ ).

#### **4.4 Resultados e discussão**

##### **4.4.1 Adições de carbono e nitrogênio**

As quantidades de resíduos, carbono e nitrogênio adicionados nos três sistemas de manejo são apresentadas na Tabela 5. A média de adição de resíduos de parte aérea e raízes de azevém e de arroz irrigado foi de, respectivamente, 5,0 e 9,5 Mg ha<sup>-1</sup>ano<sup>-1</sup>. O somatório anual de resíduos de azevém e de arroz aportados ao solo é de cerca de 15 Mg ano<sup>-1</sup>, na média dos três sistemas de manejo do solo (Tabela 5). Dessa forma, o sistema de sucessão arroz-azevém, na média dos três sistemas, aportou cerca de 3,4 Mg ha<sup>-1</sup> ano<sup>-1</sup> de C e 70 kg ha<sup>-1</sup> ano<sup>-1</sup> de N.

O sistema pré-geminado foi o que apresentou maior aporte de resíduos adicionados ao solo e, conseqüentemente, maiores adições de carbono e nitrogênio, em relação aos sistemas de semeadura direta e convencional. Possivelmente, devido aos maiores rendimentos que se obteve nesse sistema de manejo do solo ao longo dos 20 anos em comparação ao sistema em semeadura direta e convencional. Os resíduos totais de arroz foram quase o dobro dos adicionados pelo azevém (Tabela 5). Isso demonstra a importância do arroz irrigado na adição de carbono ao solo. Por outro lado, o resíduo de azevém, mesmo com menor produção de matéria seca, aportou quantidade de nitrogênio similar ao arroz irrigado, pois possui maior teor de N.

Observou-se em experimento de longo prazo, em solos de terras altas, com drenagem adequada e com condições climáticas similares à do presente trabalho que são necessários cerca de 13,0 e 21,0 Mg ha<sup>-1</sup> ano<sup>-1</sup> de matéria seca de biomassa vegetal para manter os estoques de carbono no solo,

respectivamente em semeadura direta e preparo convencional (Zanatta et al., 2007). Esses autores demonstram a importância da redução da perturbação e oxidação do solo e o alto aporte de resíduos vegetais para aumentar os estoques de carbono (Lovato et al., 2004; Zanatta et al., 2007).

Nesse sentido, sob semeadura direta, o sistema de sucessão arroz-azevém, que é um dos que mais predominam nas áreas cultivadas com arroz no Sul do Brasil, apresentou adições de matéria seca próximas de  $15 \text{ Mg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$  (Tabela 5), resultando em aumento dos estoques de carbono no solo. Contudo, com as atuais cultivares de arroz mais modernas e produtivas e com a adoção práticas de manejo mais eficientes, o sistema arroz/azevém pode atingir a quantidade de  $20,0 \text{ Mg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$  de matéria seca.



**Tabela 5. Taxas de adição de carbono em um Gleissolo Háplico cultivado com arroz irrigado sob diferentes manejos do solo por longo prazo. SD: semeadura direta, PG: pré germinado e PC: preparo convencional. Cachoeirinha-RS, Brasil.**

Tratamento	Resíduos de plantas						Saídas de resíduos		
	Parte aérea de azevém <sup>(1)</sup>	Raízes de azevém <sup>(2)</sup>	Total	Parte aérea de arroz <sup>(3)</sup>	Raízes de arroz <sup>(4)</sup>	Total	Rendimento de grãos de arroz <sup>(3)</sup>		
	(Mg ha <sup>-1</sup> ano <sup>-1</sup> )						(Mg ha <sup>-1</sup> ano <sup>-1</sup> )		
SD	4,22	1,27	5,49	6,81	2,04	9,22	7,09		
PG	4,08	1,22	5,30	7,59	2,28	10,28	7,91		
PC	4,18	1,25	5,43	7,06	2,12	9,55	7,35		
	Adição de carbono (Mg ha <sup>-1</sup> ano <sup>-1</sup> )						Saída de carbono (Mg ha <sup>-1</sup> ano <sup>-1</sup> )	Adição anual de carbono (Mg ha <sup>-1</sup> ano <sup>-1</sup> )	
SD	1,90	0,57	2,47	3,06	0,92	4,15	3,19	3,43	
PG	1,84	0,55	2,39	3,42	1,03	4,63	3,56	3,45	
PC	1,88	0,56	2,44	3,18	0,95	4,30	3,31	3,43	
	Adição de nitrogênio (kg ha <sup>-1</sup> ano <sup>-1</sup> )						Saída de nitrogênio (kg ha <sup>-1</sup> ano <sup>-1</sup> )	Adição anual de nitrogênio (kg ha <sup>-1</sup> ano <sup>-1</sup> )	
SD	80,86	24,33	105,19	85,08	29,00	114,08	145,2	74,1	
PG	78,17	23,38	101,55	94,92	32,35	127,27	162,0	66,8	
PC	80,09	23,95	104,04	88,20	30,06	118,26	150,5	71,8	

(1) (Bohnen et al., 2005).

(2) Proporção de raízes de azevém em relação à parte aérea (Assmann et al., 2014).

(3) Média desde o ano agrícola 1994/95.

(4) Proporção de raízes de arroz irrigado em relação à parte aérea (Holzschuh et al., 2009).

#### 4.4.2 Estoques totais e frações de carbono e nitrogênio

O manejo do solo influenciou significativamente os estoques de carbono no solo (Figura 8A e 8B). Na semeadura direta, os estoques de carbono nas camadas de 0-20 e 0-40 cm foram superiores aos observados nos sistemas convencional e pré-germinado e, até mesmo, aos da pastagem nativa. Já os estoques de carbono orgânico particulado não diferiram em função de sistemas de manejo do solo, nas duas camadas avaliadas. Observou-se que na camada de 0-20 cm a pastagem nativa apresentou maiores estoques de carbono orgânico particulado do que a semeadura direta (Figura 8). A grande diferença dos estoques de carbono da semeadura direta nas camadas de 0-20 e 0-40 cm para o preparo convencional foi na fração associada aos minerais (Figura 8). No geral, a mata nativa apresentou os maiores estoques de carbono orgânico total e suas frações particulada e associada aos minerais. Já a pastagem nativa apresentou baixos estoques de carbono orgânico, devido ao fato de ter sido utilizado para agricultura 25 anos antes da avaliação, com preparo intensivo, permanecendo, depois, em pousio, com estabelecimento da pastagem nativa na área. Dessa forma, esse longo período não foi suficiente para reposição dos estoques de carbono comparado à condição a mata nativa.

O aumento dos estoques de C e N aumentam sob semeadura direta pois não há o preparo do solo e, com isso, reduz a oxidação e a mineralização do carbono orgânico do solo e contribui para a estabilização de seus agregados (Six et al., 2000). Por outro lado, o preparo convencional caracteriza-se por ser um manejo intensivo, que reduz os estoques de carbono do solo, interrompe as redes de micélio por avaria mecânica que auxiliam na formação de agregados que contribui para a estabilização do COS (Mikha e Rice, 2004; Sainju et al., 2009; Curaqueo et al., 2011).

No sistema pré-germinado e convencional, os resíduos vegetais são incorporados ao solo e, em condições aeradas, o carbono é rapidamente mineralizado (Johnson et al., 2006). O sistema pré germinado possui um maior número de operações de solo para o preparo do solo do que o sistema convencional, o que em tese pode expor o carbono a maior oxidação microbiana.

Porém, a redução da mineralização do carbono acentua-se no sistema pré-germinado, pois, fica cerca de 30 dias a mais sob alagamento que os demais manejos. Além disso, o preparo do solo no sistema pré-germinado ocorre em solo sob condição saturada com uma lâmina d'água de cerca de 10 cm que retarda a mineralização do carbono orgânico do solo. Dessa forma, essas condições podem explicar os maiores estoques de carbono no pré-germinado do que no convencional, na camada de 0-20 (Figura 8 A).

Os solos cultivados com arroz irrigado no Sul do Brasil passam por constantes ciclos de alagamento e drenagem. O alagamento ocorre no verão durante o cultivo de arroz e no inverno que é bastante chuvoso e com menores temperaturas. Contudo, mesmo com a drenagem e aeração do solo o carbono do solo não é degradado rapidamente, poisas baixas temperaturas no inverno no Sul do Brasil também reduzem a mineralização desse carbono. Alguns autores observaram em um período de 165 dias de incubação e alagamento que 47% do carbono é mineralizado à 25°C e 19% à temperatura de 5°C (Devêvre e Horwáth, 2000).

A grande diferença nos estoques de carbono da semeadura direta em relação aos sistemas convencional e pré-germinado observa-se na fração associada aos minerais (Figura 8A e 8B). A associação da matéria orgânica do solo com minerais é considerado um dos principais mecanismos de estabilização da MOS no solo (Balabane e Plante, 2004; Eusterhues et al., 2005). Isso se deve a ampla área superficial que alguns minerais possuem e possibilitam grande adsorção do COS (Wagai e Mayer, 2007). Sendo que há alguns minerais que possuem maior afinidade para formar complexos organo-minerais como os óxidos de ferro, alumínio e caulinitas (Pan et al., 2004). Contudo, os solos de cultivo de arroz, de maneira geral, possuem baixos teores de óxidos de ferro (Wissing et al., 2014). Assim, possivelmente a associação do carbono nessas condições podem estar ocorrendo com a caulinita. Além da formação de complexos organo-minerais, a oclusão da matéria orgânica no interior de agregados é outro mecanismo de estabilização do COS (Eusterhues et al., 2005).

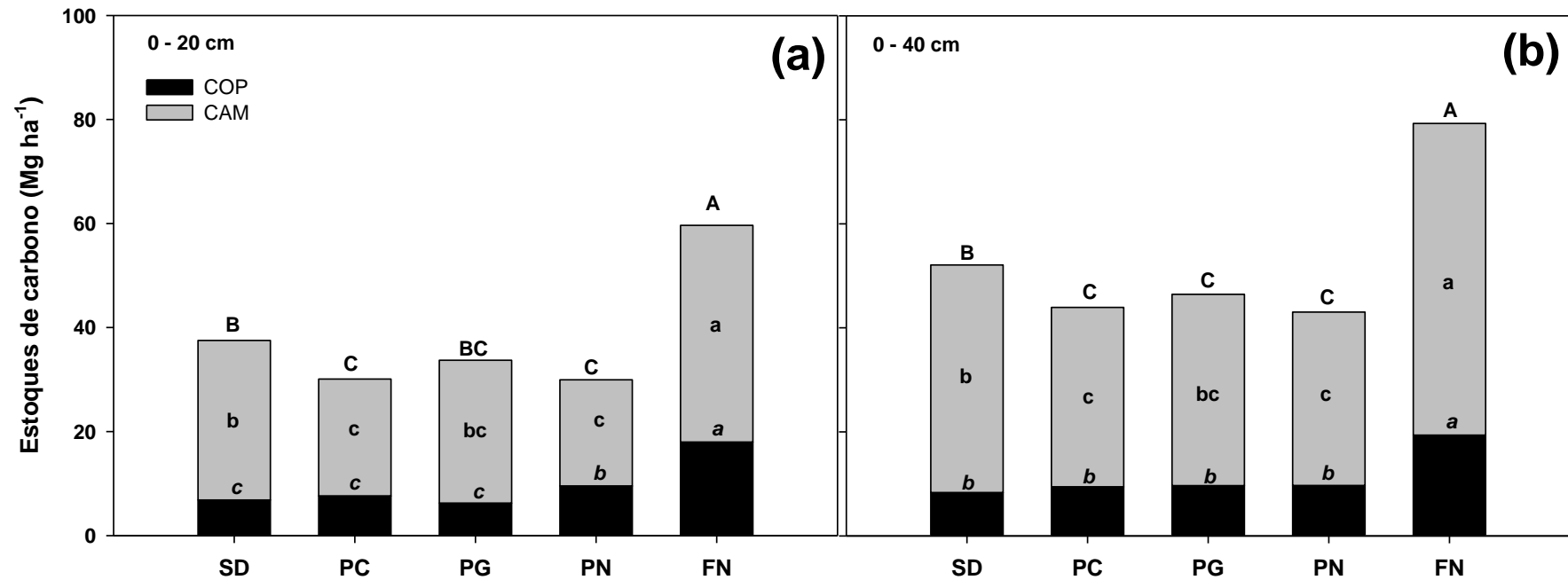


Figura 8. Estoques de carbono total (CT), carbono orgânico particulado (COP) e carbono associado aos minerais (CAM) nas camadas de solo de 0 a 20 cm (a) e de 0 a 40 cm (b) em um Gleissolo Háplico cultivado com arroz irrigado sob diferentes manejos do solo, em experimento de longo prazo, Cachoeirinha, Brasil, abril de 2015. SD: semeadura direta, PC: preparo convencional, PG: pré-germinado, PN: pastagem nativa e FN: floresta nativa. As colunas com a mesma letra não diferem pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

Na semeadura direta, o estoque total de C, na camada de 0-20 cm, foi 37 e 12 % superior aos verificados nos sistemas convencional e pré-germinado, respectivamente (Figura 8). Resultado similar foi verificado para o estoque de nitrogênio (Figura 9). No mesmo experimento em 2005 observaram-se incrementos nos estoques de carbono na camada superficial do sistema sob semeadura direta em relação ao preparo convencional com destaque para o aumento das frações livre leve oclusa (Nascimento et al., 2009). Em um Planossolo cultivado há 20 anos sob diferentes manejos, foi observado que as maiores diferenças de estoque de carbono ocorreram na camada mais superficial de solo (0-2,5 cm) (Rosa et al., 2011).

#### **4.4.3 Distribuição de carbono e nitrogênio no perfil do solo**

Verificam-se maiores teores de carbono e nitrogênio, independente do sistema de manejo, em superfície (Figuras 10 e 11). Observa-se que na semeadura direta há a formação de gradiente de carbono mais acentuado do que no convencional e pre germinado. Esse fato ocorre porque o preparo do solo com operações de grade e outros implementes incorpora os resíduos vegetais e aumenta o carbono em profundidade comparado à semeadura direta. Essas diferenças são bastante nítidas na camada de 10 a 20 cm. Esse mesmo gradiente, sob semeadura direta também foi observado no mesmo experimento em avaliação feita no ano agrícola 2005 (Nascimento et al., 2009). A dinâmica do nitrogênio é muito similar ao carbono ao longo do perfil do solo (Figuras 10 e 11). Na camada superficial, 0-5 cm, os teores de C e N da semeadura direta e apastagem nativa são mais próximos da mata nativa. Porém, na camada de 10-20 cm, os teores de C e N e suas frações na mata são, na grande maioria, o dobro dos demais sistemas avaliados.

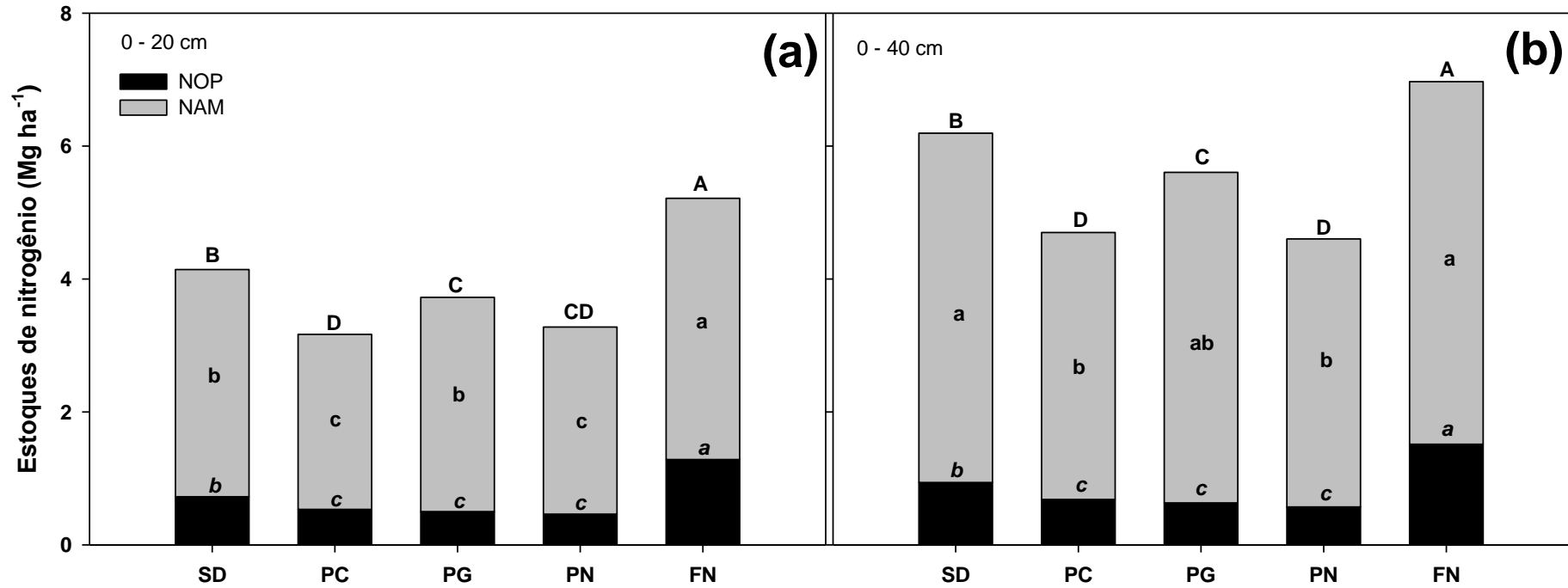


Figura 9. Estoques de nitrogênio total (NT), nitrogênio orgânico particulado (NOP) e nitrogênio associado aos minerais (NAM) nas camadas de solo de 0 a 20 cm (a) e de 0 a 40 cm (b) em um Gleissolo Háplico cultivado com arroz irrigado sob diferentes manejo do solo, em experimento de longo prazo, Cachoeirinha, Brasil, abril de 2015. SD: semeadura direta, PC: preparo convencional, PG: pré-germinado, PN: pastagem nativa e FN: floresta nativa. As colunas com a mesma letra não diferem pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

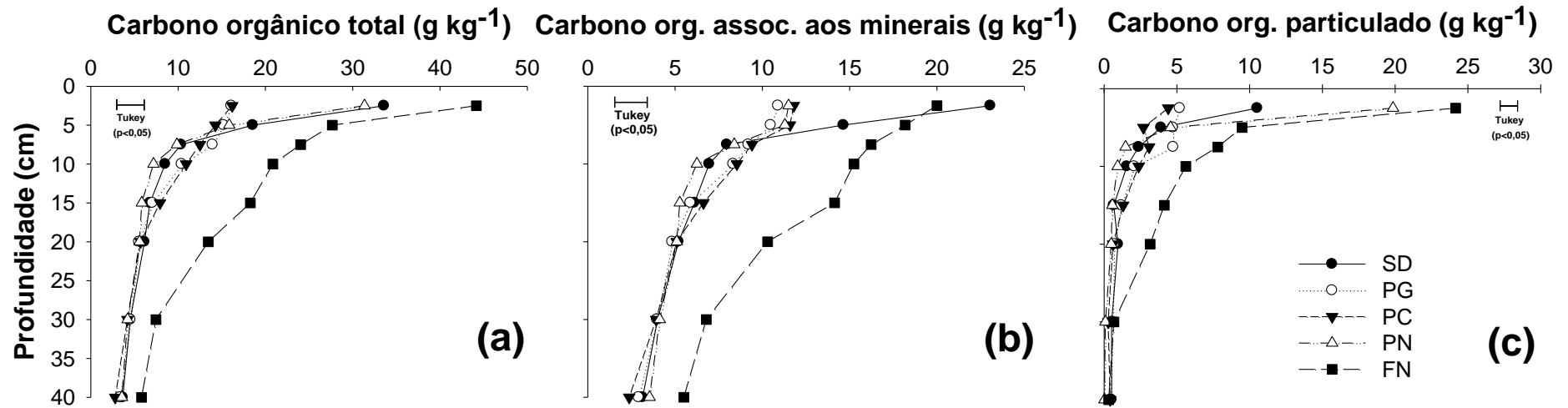


Figura 10. Carbono orgânico total (a), carbono associado aos minerais (b) e carbono orgânico particulado (c) no perfil do solo de um Gleissolo Háplico cultivado com arroz irrigado sob diferentes manejos de solo por longo prazo. Cachoeirinha, Brasil, 2015. SD: semeadura direta, PC: preparo convencional, PG: pré-germinado, PN: pastagem nativa e FN: floresta nativa. Barras horizontais comparam diferentes manejos de solo para cada camada de solo pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

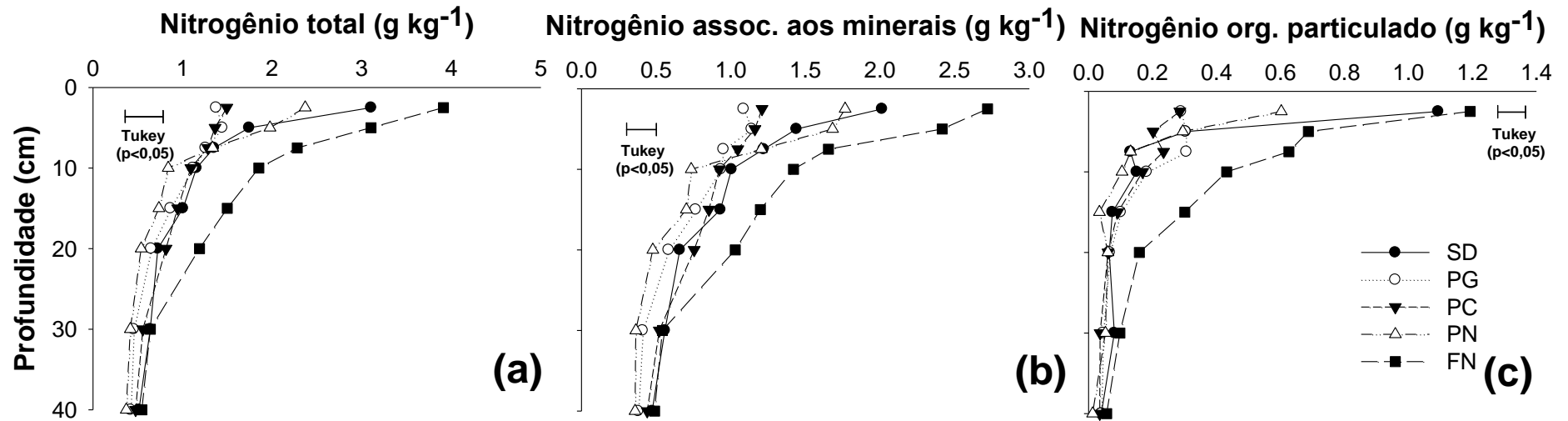


Figura 11. Nitrogênio total (a), nitrogênio associado aos minerais (b) e nitrogênio orgânico particulado (c) no perfil do solo de um Gleissolo Háplico cultivado com arroz irrigado sob diferentes manejos de solo por longo prazo. Cachoeirinha, Brasil, 2015. SD: semeadura direta, PC: preparo convencional, PG: pré-germinado, PN: pastagem nativa e FN: floresta nativa. Barras horizontais comparam diferentes manejos de solo para cada camada de solo pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).



#### 4.4.4 Índice de manejo de carbono

Pode-se observar que não houve uma diferença quanto à labilidade do carbono e o índice de manejo de carbono entre os diferentes sistemas de manejo do solo (Figuras 12A e 12B). O índice de manejo do carbono é um importante indicador para se avaliar a evolução da qualidade do solo (Assmann et al., 2014). Contudo, observam-se os altos valores de labilidade do carbono (carbono lábil/carbono associado aos minerais) (Diekow et al., 2005). Na média, independente do manejo do solo, os teores de carbono orgânico particulado chegam a representar cerca de 30% na camada de 0-5 cm. Outros solos de terras altas e sob semeadura direta possuem carbono particulado, na mesma camada, na faixa de 10-20% (Bayer et al., 2004). Essa alta labilidade do carbono pode ser explicada devido à hipóxia em solos alagados que reduz a atividade microbiana e, conseqüentemente, mantém maiores quantidade de frações lábeis de C no solo (Nascimento et al., 2009; Hanke et al., 2013). Verifica-se também que há maiores quantidades de carbono orgânico particulado na semeadura direta na camada 0-5 cm, enquanto no preparo convencional e pré germinado as quantidades de carbono lábil são maiores em camadas mais profundas, por ocasião da incorporação dos resíduos vegetais e onde há menor difusão de oxigênio (Yang et al., 2010; Wang et al., 2012). A redução do preparo do solo e o aumento dos teores de carbono orgânico particulado verificados na camada mais superficial do solo (0-5 cm) no sistema sob semeadura direta não se refletiram no aumento da labilidade do carbono e do índice de manejo do carbono em relação ao convencional e pré germinado (Figuras 12A e 12B). A labilidade de carbono foi maior nos ecossistemas de referência, pastagem nativa e floresta nativa, que não possuem intervenções da agricultura. Na camada mais profunda (20 a 40 cm), os três sistemas de manejo de solo apresentaram maiores índices de manejo de carbono em relação às referências, pastagem e mata (Figura 12B).

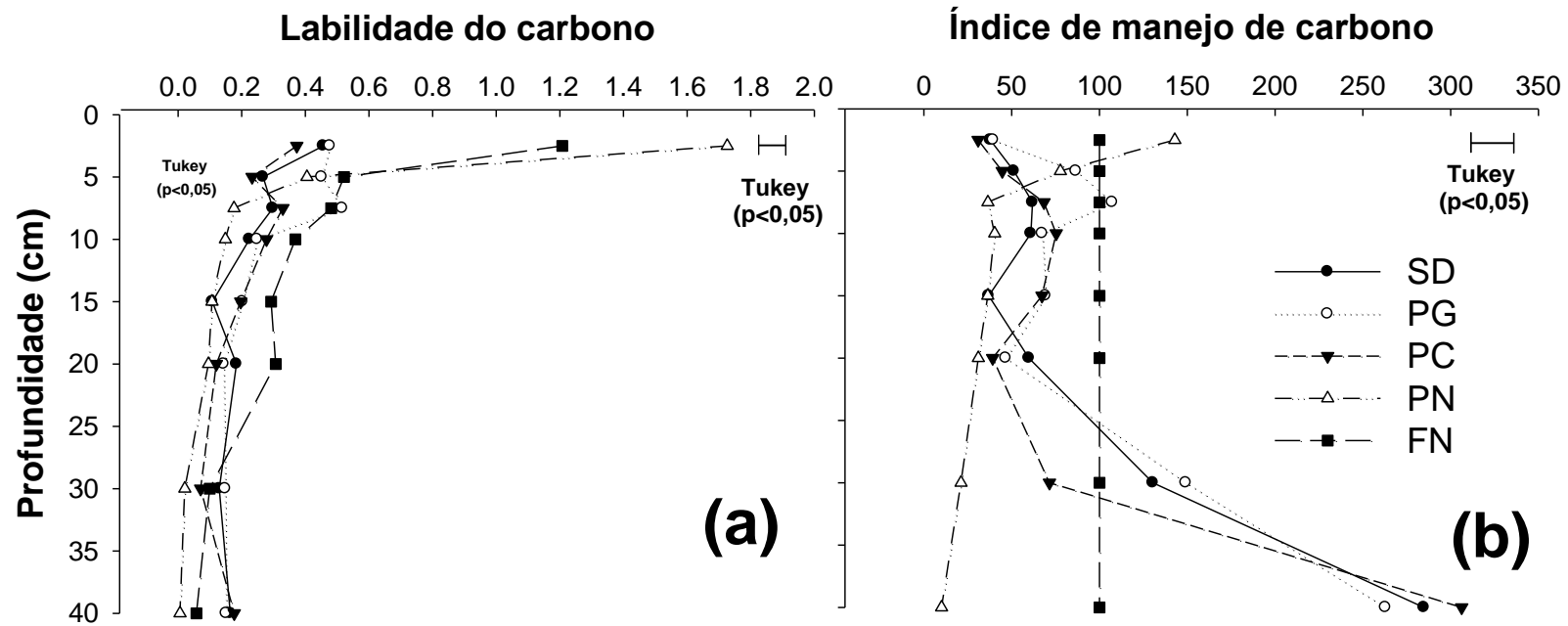


Figura 12. Labilidade do carbono (a) e índice de manejo de carbono (b) no perfil do solo de um Gleissolo Háplico cultivado com arroz irrigado sob diferentes manejos do solo, em um experimento de longo prazo. Cachoeirinha, Brasil, 2015. SD: semeadura direta, PC: preparo convencional, PG: pre-germinado, PN: pastagem nativa e FN: floresta nativa. Barras horizontais comparam diferentes manejos de solo para cada camada de solo pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

Essa condição, possivelmente, pode estar relacionada ao aporte de moléculas orgânicas via tecidos radiculares em decomposição e via deposição de exsudatos que em profundidade, sob condições de extrema redução do solo, são parcialmente mineralizados.

#### **4.4.5 Evolução da produtividade de arroz irrigado**

As diferenças de produtividade verificadas entre sistemas de manejo são divididas em dois momentos. Nos primeiros 13 anos, de 1994/95 até o ano agrícola 2007/08, observa-se que há maior frequência de obtenção de maiores produtividades no sistema pré-germinado em relação aos sistemas de semeadura direta e convencional (Figura 13). A partir dos primeiros 13 anos iniciais de condução do experimento, a semeadura direta teve produtividade similar ao preparo convencional, à exceção dos anos agrícolas 2015/16 onde a semeadura direta foi superior e em 2016/17 o preparo convencional apresentou produtividade superior. A maior produtividade nos primeiros 13 anos de condução do sistema pré-germinado pode ser atribuído a antecipação do estabelecimento da lâmina de água em cerca de 30 dias em relação aos demais sistemas (SOSBAI, 2016). Com essa antecipação há um eficiente controle físico (alagamento) das plantas daninhas, especialmente nos anos 90, época em que as sementes certificadas de arroz ainda toleravam sementes de plantas daninhas no Sul do Brasil. Além do controle mais eficiente de plantas daninhas, a antecipação do alagamento também pode contribuir para acelerar as alterações eletroquímicas que ocorrem na solução do solo, como aumento do pH e maior disponibilidade de nutrientes na solução do solo que favorecem o desenvolvimento de plantas (Ponnamperuma, 1972; Carlos et al., 2015).

Em relação à semeadura direta, a imobilização inicial de N é um aspecto relevante que pode ter provocado menor produtividade nesse manejo de solo nos primeiros 10 anos de adoção em relação aos demais manejos do solo (Doran, 1980).

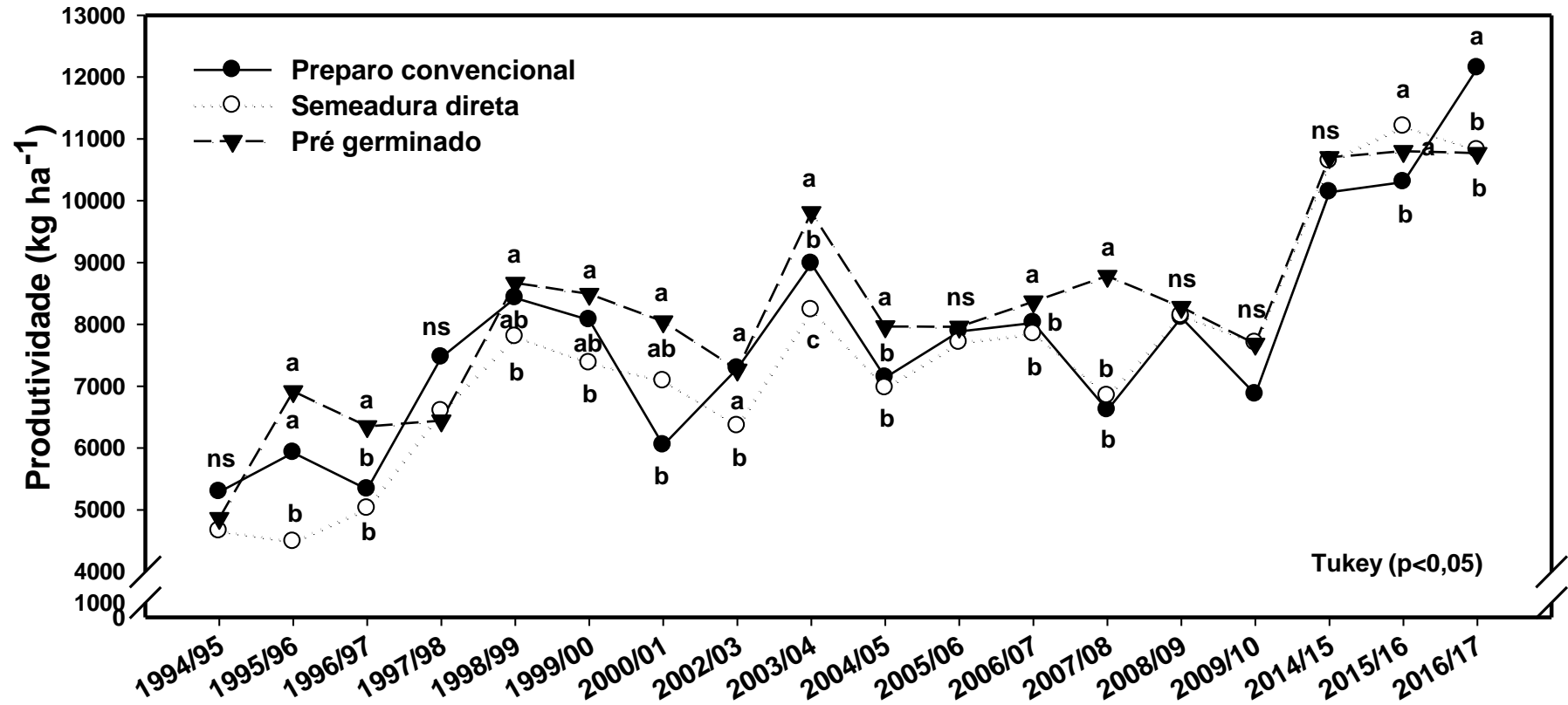


Figura 13. Produtividade de arroz irrigado do ano agrícola de 1994/95 a 2016/17 sob diferentes sistemas de manejo de solo. Preparo convencional (●), semeadura direta (○) e Pré-germinado (▼). Teste de Tukey (p < 0,05).

Verificou-se também um aumento significativo nos teores de carbono e nitrogênio na camada superficial do solo sob semeadura direta (Figuras 10 e 11) onde se concentram a maior parte do volume de raízes da cultura do arroz irrigado. Os aumentos de carbono são relacionados em muitas situações à melhoria da qualidade do solo, maior capacidade de suprimento de nutrientes e conseqüentemente maior produtividade das culturas (Dang et al., 2015). Contudo, o alagamento provoca alterações eletroquímicas na solução do solo que propiciam a melhoria das condições químicas, principalmente na maior disponibilidade de macronutrientes e aumento do pH (Carlos et al., 2015). Assim, essas mudanças promovidas pelo alagamento provavelmente possibilitam aos demais manejos do solo, pré germinado e convencional, condições adequadas de nutrição e na maior parte dos anos agrícolas, após os 13 anos iniciais, obtenção de produtividades similares.

O aumento da produtividade ao longo de 20 anos (Figura 13), independentemente do sistema de manejo do solo, ocorreu devido à utilização de cultivares com maior potencial produtivo e à melhoria de práticas de manejo: sementes de qualidade, tratamento de sementes, redução de densidade, antecipação da época de semeadura, irrigação precoce, incrementos nos níveis de fertilização, aplicação de nitrogênio em solo seco antes da irrigação, melhoria de controle de plantas daninhas, doenças e insetos praga (Menezes et al., 2012).

#### **4.5 Conclusões**

O cultivo de arroz irrigado sob semeadura direta por longo prazo aumenta os estoques de carbono e nitrogênio do solo (0-40cm) em relação aos sistemas convencional, pré germinado e pastagem nativa.

A adoção da semeadura direta por longo prazo como sistema de manejo do solo aumenta os teores de carbono e nitrogênio na camada superficial de solo em relação aos sistemas convencional e pré-germinado sob cultivo de arroz irrigado por longo prazo. No entanto, esses aumentos não se refletem em maior índice de manejo de carbono.

Até os 13 primeiros anos de implantação da semeadura direta, a produtividade do arroz irrigado é inferior em relação às obtidas nos sistemas convencional e pré-germinado. Porém, após esse período, a produtividade de

arroz sob semeadura direta, de maneira geral, é similar aos demais sistemas de manejo do solo.

Ao longo dos 20 anos de avaliação, independentemente do sistema de manejo de solo, a produtividade média de arroz irrigado aumenta, devido à utilização de cultivares mais produtivas e à adoção de práticas de manejo mais eficientes.

## **5 CAPÍTULO 4 – ESTUDO 3: A CONTRIBUIÇÃO DA INTEGRAÇÃO ARROZ IRRIGADO E PECUÁRIA DE CORTE NA DISPONIBILIDADE DE NUTRIENTES E ATIVIDADE ENZIMÁTICA DO SOLO**

### **5.1 Resumo**

A integração lavoura pecuária associada à rotação de culturas e ao manejo conservacionista, compõem os sistemas integrados de produção agropecuária (SIPA). A adoção dos SIPA acarreta em mudanças nos fluxos de nutrientes e na dinâmica bioquímica do solo. Dessa forma, esse trabalho teve o objetivo de avaliar a disponibilidade de nutrientes e a atividade de enzimas extracelulares em um Planossolo sob integração lavoura pecuária em semeadura direta no Sul do Brasil. O experimento foi iniciado em 2013 no município de Cristal-RS. A área experimental possui 18 ha e os tratamentos consistem em diferentes sistemas de produção integrada que envolvem desde o monocultivo de arroz irrigado até sistemas de maior diversificação de cultivos de verão como a soja, milho e capim sudão com a inserção do animal no sistema. Para avaliação da atividade enzimática, foram coletadas amostras de solo sob condição natural de cada tratamento e sob placas de esterco em outubro de 2015 ao término do fim do ciclo de pastejo em cada parcela experimental. As coletas de solução de solo foram realizadas nos anos agrícolas 2014/2015, 2015/16 e 2016/17 a partir do primeiro dia após alagamento (DAA), até cerca de 70 DAA, com intervalo médio de sete dias entre as coletas, e de 15 dias nas últimas duas coletas utilizando-se três coletores de solução do solo por unidade experimental a 5 cm de profundidade. Foram analisados os teores de amônio, nitrato, fósforo, potássio, cálcio e magnésio na solução do solo. Os SIPA aumentaram a atividade da urease,  $\beta$ -glucosidase e esterases (fluoresceína diacetato), principalmente, à medida que se incrementou os níveis de diversificação das culturas de verão e

intensificação do pastejo. De maneira geral, observou-se aumentos na disponibilidade de amônio, fósforo, potássio, cálcio e magnésio na solução do solo por ocasião da adoção dos SIPA em terras baixas. A adoção dos SIPA em ambientes de produção de terras baixas se mostra uma alternativa para o aumento da atividade enzimática do solo e aumento dos teores de nutrientes na solução do solo cultivado com arroz irrigado.

**Palavras-chave:** disponibilidade de nutrientes, atividade microbiana, sistemas integrados de produção agropecuária.

## 5.2 Introdução

O arroz é a base alimentar de cerca de 4,4 bilhões de pessoas no mundo e estima-se que o aumento da demanda desse cereal até 2050 seja de 20-30% (IRRI, 2016). Contudo, atualmente há pouca disponibilidade de terra agricultável, além dos acentuados desequilíbrios da conversão de biomas nativos para a atividade agropecuária (Busari et al., 2015). Soma-se a esse cenário os frequentes problemas decorrentes da especialização dos cultivos e simplificação do manejo das culturas, desencadeando inúmeros eventos de contaminação de mananciais hídricos, aumento da emissão de gases de efeito estufa, erosão e degradação do solo e perda de biodiversidade (Lemaire et al., 2014). Nesse cenário, os sistemas integrados de produção agropecuária (SIPA) são alternativas de produção sustentáveis de sinergismo entre a produção de alimentos, energia, fibra e a qualidade ambiental (Lemaire et al., 2014). Os SIPA estão baseados no uso intercalado ou simultâneo no espaço e no tempo da atividade pecuária com lavouras e florestas, que propiciam a otimização do uso dos recursos naturais tornando mais sustentável a produção de alimentos (Anghinoni et al., 2013). Diversos trabalhos têm verificado que o uso dos SIPA estimula inúmeras melhorias no compartimento solo (Anghinoni et al., 2013; Assmann et al., 2014; Costa et al., 2014; Martins et al., 2017), planta (Carmona et al., 2016) e animal (Carvalho et al., 2010).

Os SIPA são considerados sistemas conservacionistas de manejo e, por isso, têm como um dos seus principais pilares a semeadura direta (Anghinoni



et al., 2013). Esse manejo do solo promove aumento do estoque de carbono orgânico no solo (Souza et al., 2008). Aliado a isso, a semeadura direta mitiga os impactos da agricultura no meio ambiente, pois reduz a erosão do solo, aumenta o sequestro de carbono, reduz o consumo de energia e emissão de dióxido de carbono e diminui a poluição de águas superficiais (Merten e Minella, 2013). Contudo, a prática isolada da semeadura direta não é suficiente para a melhoria da qualidade do solo, sendo fundamentais práticas que insiram biodiversidade ao sistema, como a rotação de culturas (Anghinoni et al., 2013; Conceição et al., 2013; Mcdaniel e Grandy, 2016). A inserção de leguminosas em rotação, como a soja no período estival ou pastagens, como trevo branco e cornichão no período hibernar, tornam o SIPA ainda mais diversificado e rico (Franzluebbers, 2007). As leguminosas têm por excelência capacidade de realizar fixação simbiótica de nitrogênio (FBN), o que as conferem uma composição com menor relação carbono:nitrogênio (C:N). Isso possibilita menor imobilização de N no processo de mineralização no solo, quando comparado às gramíneas (Franzluebbers, 2007) e pode fornecer grandes quantidades de N, auxiliando na redução da quantidade de fertilizantes nitrogenados utilizados nas culturas (Louarn et al., 2015). Nesse sentido, a utilização de pastagens, principalmente no período hibernar, em que as áreas de cultivo de arroz ficam em pousio, são alternativas viáveis ao aumento da biodiversidade (Carvalho et al., 2010), trazendo benefícios como a ciclagem de nutrientes (Anghinoni et al., 2013; Assmann et al., 2017).

A inserção do animal no sistema é um elemento chave dos SIPA, pois contribui para o aumento dos estoques de carbono do solo (Assmann et al., 2014), maior produção de biomassa vegetal das forrageiras (parte aérea e raízes) e uma grande liberação de excretas (urina e esterco) pelos animais (Carvalho et al., 2010). Essas mudanças ocasionadas pelo pastejo afetam diretamente os fluxos de nutrientes no solo (Assmann et al., 2014). Em solos de terras altas, tem-se observado aumentos da labilidade e dos estoques de carbono orgânico (Souza et al., 2008; Assmann et al., 2014), bem como aumento das formas de fósforo (P) orgânico (Costa et al., 2014), maior mobilidade do calcário no perfil do solo (Martins et al., 2014) e aumento da ciclagem do potássio (K) (Ferreira et al., 2009). No entanto, embora haja poucos estudos referentes à

adoção de SIPA em terras baixas, sabe-se que sua adoção reflete em impactos positivos na qualidade do solo em curto prazo, principalmente envolvendo características microbiológicas (Martins et al., 2017).

Assim, a adoção dos SIPA pode ser também importante no aumento da ciclagem de nutrientes e na maior atividade biológica dos solos cultivados com arroz irrigado no Sul do Brasil, visto que o uso de pastagens no período de inverno e a adoção da semeadura direta são práticas incomuns (SOSBAI, 2016). Além disso, a grande maioria dos solos cultivados com arroz irrigado no Sul do Brasil possui baixa fertilidade natural (Streck et al., 2008), em geral com baixos níveis de matéria orgânica (MO) (Boeni et al., 2010), o que se reflete no requerimento de altos aportes de fertilizantes para obtenção de satisfatórios níveis de produtividade de grãos (Carmona et al., 2016). Isso faz com que as limitadas informações a respeito dos impactos desses sistemas em ambientes arrozeiros vão ao encontro das necessidades de adoção de práticas que promovam maior sustentabilidade desses ambientes, principalmente envolvendo o cultivo do arroz irrigado (Martins et al., 2017).

Assim, a integração do cultivo de arroz irrigado com o pastejo sob semeadura direta é um sistema de produção que pode aumentar a disponibilidade de nutrientes no solo, refletindo no aumento da biomassa microbiana e, conseqüentemente, na maior atividade de enzimas extracelulares do solo. Dessa forma, esse trabalho tem o objetivo de avaliar os nutrientes na solução do solo e a atividade enzimática de um Planossolo sob diferentes sistemas de integração arroz irrigado-pecuária de corte em semeadura direta no Sul do Brasil.

### 5.3 Material e métodos

#### 5.3.1 Histórico da área, tratamentos e manejo do solo, das espécies cultivadas e dos animais

O experimento foi iniciado em 2013 e fica localizado na fazenda Corticeiras no município de Cristal-RS. O solo é classificado como Planossolo Háplico eutrófico típico (Streck et al., 2008) com relevo suave ondulado. A área experimental possui 18 ha, onde esteve em pousio por 3 anos antes da implantação do protocolo experimental. A área foi preparada previamente à instalação do experimento com uma operação de arado e duas com grade niveladora. Entre as operações de gradagem foi aplicado calcário com o objetivo de atingir pH do solo a 6,0 (CQFS-RS/SC, 2004). Os tratamentos utilizados nesse protocolo experimental consistem em cinco sistemas organizados em um delineamento experimental de blocos casualizados, com três repetições.

Os tratamentos são sistemas que consistem em:

**Sistema1 (T1) – Testemunha padrão (TP), sem adição de animal no sistema: Arroz – pousio – arroz:** Sistema dominante na maioria dos casos no Rio Grande do Sul, serve de testemunha (tratamento controle) em relação aos sistemas otimizados, caracterizando-se como monocultivo.

**Sistema 2 (T2) – Sucessão rápida, com baixa diversidade:** Arroz – azevém pastejado – arroz. Este modelo engloba o perfil das pequenas e médias propriedades do Sul do Brasil. A implantação de azevém no inverno possibilita o pastejo e, por consequência, um melhor uso da terra num período normalmente ocioso.

**Sistema 3 (T3) – Rotação rápida, com moderada diversidade:** Arroz – azevém pastejado – soja– azevém pastejado – arroz. Sistema é muito comum tanto em pequenas, quanto em médias e grandes propriedades do Sul do Brasil. Nesse caso, a soja entra no sistema para agregar qualidade ao solo (pela deposição de N) e serve como ferramenta de controle de plantas daninhas. O cultivo de azevém no inverno permite o retorno econômico com a presença de animais.

**Sistema 4 (T4) – Rotação lenta, com alta diversidade:** Arroz – azevém + trevo branco pastejados – capim sudão pastejado – azevém + trevo branco pastejados – soja – azevém + trevo branco pastejados – milho– azevém + trevo branco pastejados – arroz. Cenário de médias e grandes propriedades no Sul do Brasil. Busca otimizar um sistema de rotação que prevê o cultivo de arroz a cada quatro anos, pela inserção no sistema, de maior diversidade de espécies.

**Sistema 5 (T5) – Rotação lenta, com baixa diversidade:** Arroz – azevém + trevo branco + cornichão pastejados – campo de sucessão pastejado – azevém + trevo branco + cornichão pastejados– campo de sucessão pastejado – azevém + trevo branco + cornichão pastejados– campo de sucessão pastejado – azevém + trevo branco + cornichão pastejados – arroz. Sistema comum de produção nas grandes propriedades do Sul do Brasil, Uruguai e Argentina.

A distribuição detalhada das culturas agrícolas e as patagens nos tratamentos são descritos na tabela 6 e as fertilizações realizadas em cada ano e época na tabela 7. As culturas da soja, trevo branco e cornichão foram inoculadas previamente a semeadura.

À exceção do sistema 1, que sempre é preparado convencionalmente entre os cultivos de arroz, os demais tratamentos são conduzidos em sistema de semeadura direta. O pastejo é realizado pelo método contínuo com lotação variável, composto por três animais-teste (*testers*) por unidade experimental e por animais reguladores que entram e saem da pastagem conforme a necessidade de ajuste da altura (Mott e Lucas, 1952). O manejo das culturas de verão seguiram as recomendações técnicas de manejo para a cultura do arroz irrigado (SOSBAI, 2016), milho e sorgo (FEPAGRO, 2009) e soja (Costamilan et al., 2012). As unidades experimentais são parcelas (potreiros) que possuem tamanho variável de 0,7 a 1,4 ha.

Tabela 6. Tratamentos<sup>1</sup> utilizados no experimento conforme os anos agrícolas e épocas do ano.

Tratamento	----- 2013 -----		----- 2014 -----		----- 2015 -----		----- 2016 -----	
	Inverno	Verão	Inverno	Verão	Inverno	Verão	Inverno	Verão
T1	Pousio	Arroz	Pousio	Arroz	Pousio	Arroz	Pousio	Arroz
T2	Azevém	Arroz	Azevém	Arroz	Azevém	Arroz	Azevém	Arroz
T3	Azevém	Soja	Azevém	Arroz	Azevém	Soja	Azevém	Arroz
T4	Azevém + TB	Sudão	Azevém + TB	Soja	Azevém + TB	Milho	Azevém + TB	Arroz
T5	Azevém + TB + Cr	Campo	Azevém + TB + Cr	Campo	Azevém + TB + Cr	Campo	Azevém + TB + Cr	Arroz

<sup>1</sup>Tratamento: 1. Monocultivo de arroz-pousio (testemunha com preparo de solo); 2. SIPA arroz- gado de corte; 3. SIPA em rotação soja/arroz – gado de corte; 4. SIPA, em rotação pastagem cultivada/soja/milho/arroz – gado de corte e 5. Pastagem cultivada/pastagem cultivada – arroz.  
TB: Trevo Branco; Cr: Cornichão.

Tabela 7. Detalhamento das adubações realizadas nos tratamentos de 2013 a 2016.

			Tratamentos <sup>(1)</sup>				
			1	2	3	4	5
<b>Inverno 2013</b>	N		0	110	110	110	110
	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	kg ha <sup>-1</sup>	0	110	110	130	130
	K <sub>2</sub> O		0	110	110	130	130
<b>Verão 2013/14</b>	N		150	150	20	130	130
	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	kg ha <sup>-1</sup>	70	70	110	80	80
	K <sub>2</sub> O		120	120	120	120	120
<b>Inverno 2014</b>	N		0	130	130	130	130
	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	kg ha <sup>-1</sup>	0	130	130	130	130
	K <sub>2</sub> O		0	130	130	130	130
<b>Verão 2014/15</b>	N		161	161	161	28	126
	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	kg ha <sup>-1</sup>	73	73	73	136	86
	K <sub>2</sub> O		115	115	115	154	90
<b>Inverno 2015</b>	N		0	130	130	130	130
	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	kg ha <sup>-1</sup>	0	130	130	130	130
	K <sub>2</sub> O		0	130	130	130	130
<b>Verão 2015/16</b>	N		150	150	20	120	126
	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	kg ha <sup>-1</sup>	70	70	110	120	86
	K <sub>2</sub> O		120	120	120	130	90
<b>Inverno 2016</b>	N		0	130	130	130	130
	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	kg ha <sup>-1</sup>	0	130	130	130	130
	K <sub>2</sub> O		0	130	130	130	130
<b>Verão 2016/17</b>	N		150	150	150	150	150
	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	kg ha <sup>-1</sup>	70	70	70	70	70
	K <sub>2</sub> O		120	120	120	120	120
<b>Total 2013 - 2016</b>	N		611	1111	851	928	1032
	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	kg ha <sup>-1</sup>	283	783	863	926	842
	K <sub>2</sub> O		475	975	975	1044	940

<sup>1</sup>Tratamento: 1. Monocultivo de arroz-pousio (testemunha com preparo de solo); 2. SIPA arroz-gado de corte; 3. SIPA em rotação soja/arroz – gado de corte; 4. SIPA, em rotação pastagem cultivada/soja/milho/arroz – gado de corte e 5. Pastagem cultivada/pastagem cultivada – arroz.

### 5.3.2 Amostragem de solução do solo e determinação de nutrientes na solução de solo alagado

Foram instalados 3 coletores de solução do solo por unidade experimental (potreiro), distribuídos aleatoriamente a uma profundidade aproximada de 5 cm. Os coletores consistiram de tubos de polietileno de 30 mm de diâmetro conectados a tubos coletores de PVC de 20 mm de diâmetro e 50 mm de comprimento, recobertos nas extremidades com tela de náilon. Pela extremidade superior da mangueira, extraíram-se 40 mL de solução, utilizando-se uma seringa de 10 mL. As coletas de solução do solo foram realizadas nos anos agrícolas 2014/15, 2015/16 e 2016/17 a partir do primeiro dia após o

alagamento (DAA), até cerca de 70 DAA, com intervalo médio de sete dias entre as primeiras seis coletas e de 15 dias nas últimas duas coletas. Após as coletas, as amostras foram encaminhadas imediatamente para o laboratório onde as mesmas eram acidificadas com três gotas de HCl 5%, filtradas e os teores de  $\text{NH}_4^+$  e  $\text{NO}_3^-$  determinados conforme método de destilação Kjeldahl e os teores de P determinados por espectrofotometria visível (Tedesco et al., 1995). Os teores de K, Ca e Mg foram determinados por espectrofotometria de absorção atômica (Tedesco et al., 1995).

### **5.3.3 Amostragem de solo**

Para avaliação das enzimas extracelulares, 8 sub-amostras foram coletadas em cada unidade experimental na camada de 0 – 5 cm ao término do ciclo do pastejo, em outubro de 2015. No mesmo dia, foi coletado solo sob 30 placas de esterco em cada unidade experimental. Posteriormente foram homogeneizadas para a constituição de uma amostra de solo por parcela. As amostras foram coletadas com auxílio de pá de corte e removeu-se o material orgânico superficial em decomposição. Após as coletas, as amostras de solo foram imediatamente armazenadas em temperatura refrigerada ( $\leq 4^\circ\text{C}$ ) até o momento da análise. Previamente às análises, as amostras de solo foram tamisadas em peneira de 2 mm para a determinação da atividade das enzimas extracelulares.

### **5.3.4 Determinação da atividade de enzimas extracelulares no solo**

A metodologia foi descrita nos itens 3.3.7, 3.3.8, 3.3.9 e 3.3.10.

### **5.3.5 Análise estatística**

Os teores de nutrientes na solução do solo foram submetidos à análise bifatorial, sendo o fator A os diferentes sistemas de integração lavoura pecuária e o fator B os dias após o estabelecimento da irrigação. Para os dados

de atividade enzimática também foi considerado um bifatorial sendo o fator A os diferentes sistemas de integração lavoura pecuária e o fator B as condições de solo natural e solo sob placas de esterco. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), e quando significativa ( $p < 0,05$ ), as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). As análises estatísticas foram realizados com suporte do programa estatístico SPSS 24.

## **5.4 Resultados**

### **5.4.1 Amônio e nitrato na solução do solo**

Os sistemas integrados de produção agropecuária (SIPA) em terras baixas influenciaram significativamente os teores de amônio na solução do solo cultivado com arroz irrigado nos anos agrícolas 2014/15 e 2015/16 ( $p < 0,05$ ), principalmente nos primeiros 20 a 30 dias de estabelecimento da irrigação (Figura 14a e 14b). Nesses dois anos agrícolas, no período inicial de alagamento (30 dias) os teores de amônio disponíveis na solução do solo sob SIPA foram de 5 a 30 mg L<sup>-1</sup> superiores ao sistema convencional de cultivo do arroz do RS (T1). Já no ano agrícola 2016/17 as diferenças significativas de amônio na solução do solo foram verificadas somente no primeiro dia após o estabelecimento da irrigação (Figura 14c).

Os teores de nitrato não foram influenciados pelos diferentes tratamentos. Independentemente do ano agrícola seus maiores teores foram verificados no primeiro dia após o alagamento, posteriormente os valores nos três anos agrícolas foram na faixa de 0,5 a 2 mg L<sup>-1</sup> (Figuras 14d, 14e e 14f).

### **5.4.2 Fósforo e potássio na solução do solo**

A adoção do SIPA influenciou significativamente os teores de P na solução do solo cultivado com arroz irrigado. Esses aumentos foram evidentes até os primeiros 40 dias de estabelecimento da irrigação nos anos agrícolas 2014/15 e 2015/16 (Figuras 15a e 15b). No ano agrícola 2016/17 as diferenças entre os SIPA e o monocultivo de arroz irrigado (T1) evidenciaram-se até os primeiro 30 dias de irrigação da cultura (Figura 15c). Nos anos agrícolas de



2014/15 e 2016/17 os teores de P no T1 não ultrapassaram  $0,3 \text{ mg L}^{-1}$ , enquanto que em muitas datas de avaliação os teores dos tratamentos sob SIPA apresentaram disponibilidade de P variando de  $0,2$  a  $1,0 \text{ mg L}^{-1}$  nos primeiros 20 dias de alagamento.

Para o K, em 2014/15, observaram-se maiores teores na solução do solo nos tratamentos sob SIPA (T2 e T3) durante praticamente todo o período de avaliação com teores cerca de  $5$  a  $20 \text{ mg L}^{-1}$  maiores do que o T1 (Figura 15d). Em 2015/16 a diferença significativa dos teores de K foi evidente até os primeiros 20 dias de irrigação (Figura 15e) e no último ano agrícola, 2016/17, as maiores disponibilidades significativas de K na solução do solo alagado sob SIPA verificaram-se nos primeiros 30 dias de irrigação (Figura 15f).

#### **5.4.1 Cálcio e magnésio na solução do solo**

Os SIPA influenciaram os teores de Ca na solução dos 7 aos 21 dias após o alagamento do solo no ano agrícola 2014/15 com aumentos de  $5$  a  $40 \text{ mg L}^{-1}$  do T2 e T3 em relação ao T1 (Figura 16a). Já nos anos agrícolas 2015/16 os teores de cálcio na solução do solo foram maiores sob SIPA praticamente durante todo o período de avaliação (Figuras 16b). Até os 50 dias de alagamento em 2015/16 os teores de Ca no T2 foram de  $5$  a  $10 \text{ mg L}^{-1}$  superiores ao T1. No último ano agrícola avaliado, as maiores disponibilidades de Ca na solução do solo foram identificadas no T4 e T5 em relação aos demais tratamentos (Figura 16c).

Com relação aos teores Mg, as diferenças significativas não foram tão expressivas no ano agrícola 2014/15 (Figura 16d). No ano agrícola 2015/16 os teores de Mg na solução do solo foram maiores na primeira semana de avaliação (Figura 16e). No ano agrícola 2016/17 verificou-se os maiores teores de Mg na solução do solo cultivado com arroz irrigado no T4 e T5, durante todo o período de avaliação (Figura 16f).

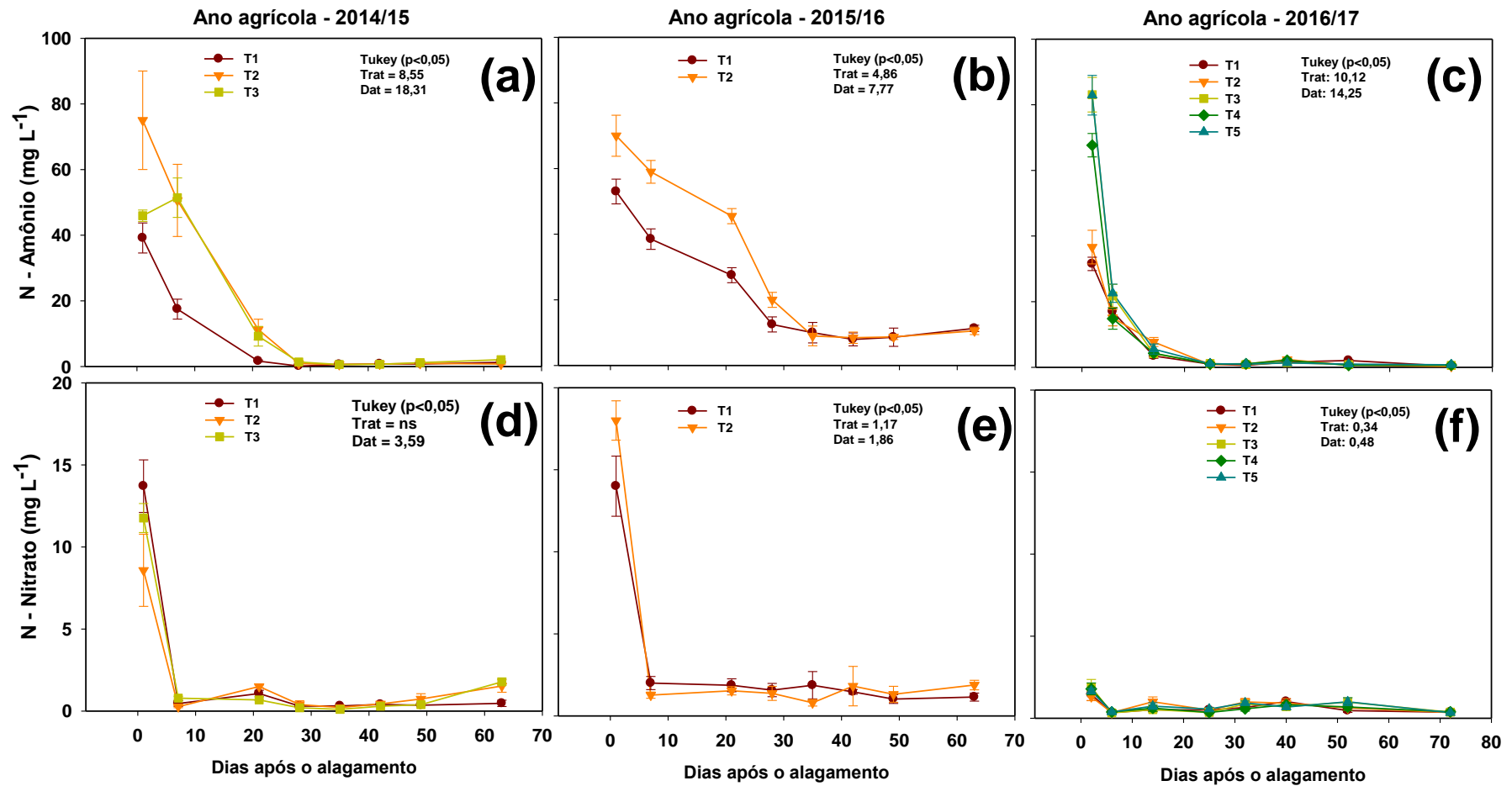


Figura 14. Teores de amônio (a, b e c) e nitrato (d, e e f) na solução de um Planossolo conduzido sob diferentes sistemas de integração arroz pecuária de corte, nos anos agrícolas 2014/15, 2015/16 e 2016/17. T1: arroz contínuo com pousio no inverno, T2: arroz contínuo com pastejo sobre azevém no inverno, T3: rotação arroz/soja com pastejo sobre azevém no inverno, T4: rotação arroz/soja/milho com pastejo sobre azevém e trevo branco no inverno e T5: arroz cultivado em sucessão a três anos de azevém, cornichão e trevo branco no inverno e campo de sucessão no verão. Teste de Tukey (p<0,05). ns: não diferiu estatisticamente. Barras verticais incidam o desvio padrão.

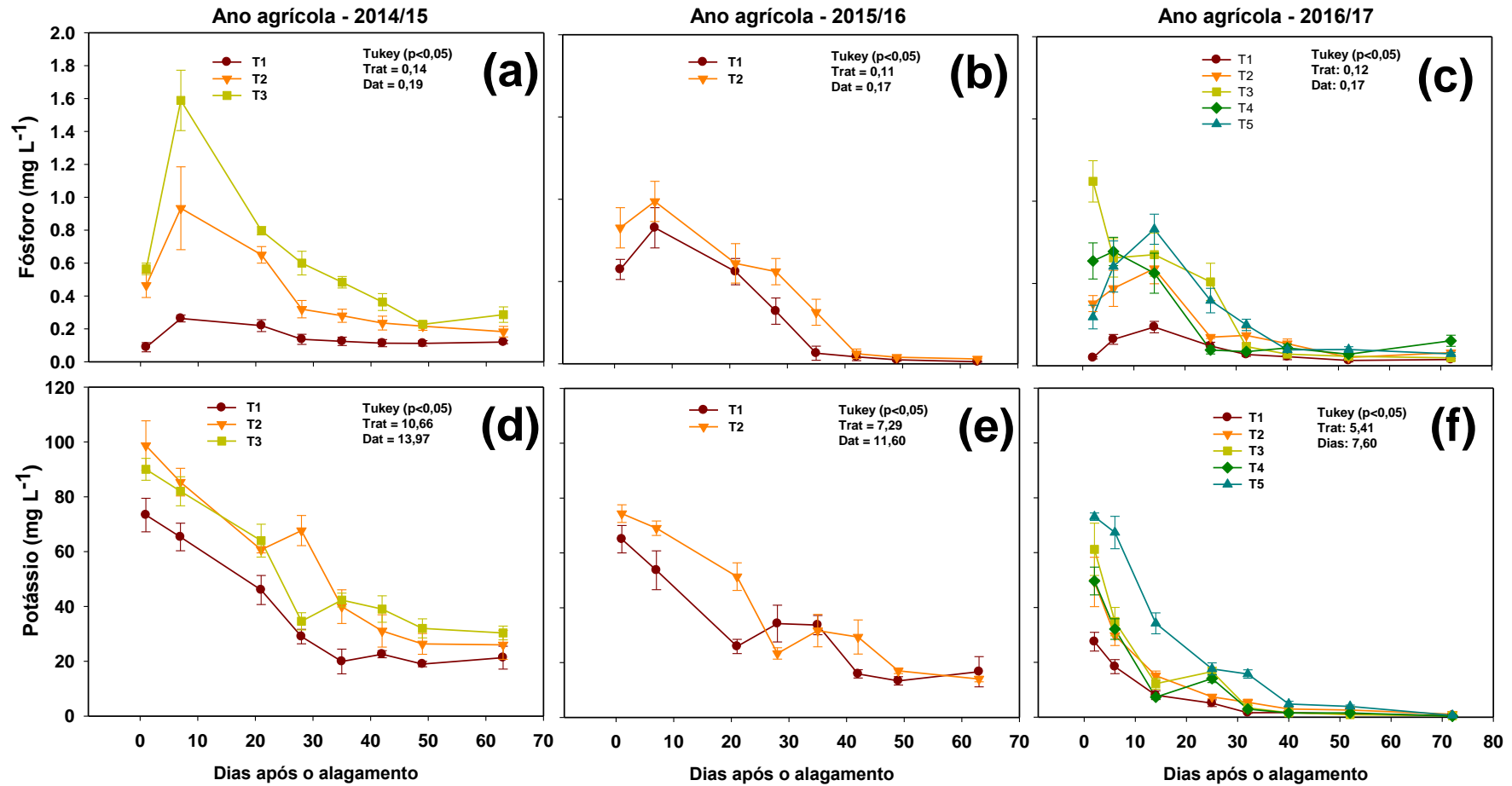


Figura 15. Teores de fósforo (a, b e c) e potássio (d, e e f) na solução de um Planosolo conduzido sob diferentes sistemas de integração arroz pecuária de corte, nos anos agrícolas 2014/15, 2015/16 e 2016/17. T1: arroz contínuo com pousio no inverno, T2: arroz contínuo com pastejo sobre azevém no inverno, T3: rotação arroz/soja com pastejo sobre azevém no inverno, T4: rotação arroz/soja/milho com pastejo sobre azevém e trevo branco no inverno e T5: arroz cultivado em sucessão a três anos de azevém, cornichão e trevo branco no inverno e campo de sucessão no verão. Teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). Barras verticais incidam o desvio padrão.

#### 5.4.1 Atividade de enzimas extracelulares do solo

A atividade da urease foi influenciada pela adoção dos SIPA, com atividade no T1 de  $14,2 \mu\text{g N-NH}_4 \text{ g solo h}^{-1}$ , e nos demais tratamentos variando de  $18,2$  a  $35,35 \mu\text{g N-NH}_4 \text{ g solo h}^{-1}$ , indicando um incremento médio de 82% na atividade da urease sob SIPA (Figura 17b). Por outro lado, a atividade da urease no solo sob placas de esterco bovino variou entre  $35$  e  $49 \mu\text{g N-NH}_4 \text{ g solo h}^{-1}$ , superior ao solo na condição natural, o qual teve a atividade dessa enzima na faixa de  $18$  e  $35 \mu\text{g N-NH}_4 \text{ g solo h}^{-1}$ . Isso indica que o efeito da placa de esterco proporciona um aumento médio na atividade da urease de 53%.

Adoção dos SIPA e o solo sob placas de esterco apresentaram efeito sobre a atividade da esterase (FDA) ( $p < 0,05$ ) (Figura 17c). O solo sob SIPA apresentou atividade da esterase (FDA) entre  $5,0$  e  $8,7 \mu\text{g g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ , e aumentou 100% a esterase (FDA) em relação ao T1, com atividade de  $3,2 \mu\text{g g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ . A atividade das esterases, avaliadas pela FDA, do solo sob esterco foi observada na faixa de  $6,9$  e  $10,3 \mu\text{g g}^{-1} \text{ h}^{-1}$  e foi, na média, 23% superiores ao solo na condição natural.

A atividade da  $\beta$ -glucosidase também foi influenciada pela adoção dos SIPA, passando de uma atividade de  $74,3 \mu\text{g PNP g}^{-1} \text{ h}^{-1}$  no T1, para atividade de  $90,3$  a  $146,3 \mu\text{g PNP g}^{-1} \text{ h}^{-1}$  nos tratamentos 2 e 4, respectivamente, representando um aumento médio de 54% na atividade da  $\beta$ -glucosidase (Figura 17d). Já a atividade dessa enzima no solo sob placas de esterco foi na faixa de  $157,3$  a  $206,7 \mu\text{g PNP g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ , sendo significativamente superior em média 60% quando comparado ao solo em condição natural. Por outro lado, a atividade da enzima fosfatase não foi alterada, tanto pelos diferentes arranjos de SIPA impostos, como pela presença de placas de esterco no solo (Figura 17a).

#### 5.5 Discussão

Nesse trabalho, observaram-se resultados significativos da adoção dos SIPA no aumento da disponibilidade dos principais macronutrientes na solução do solo (Figuras 14, 15 e 16) e na atividade de enzimas extracelulares do solo (Figura 17). Uma série de fatores estão relacionados com a adoção dos

SIPA e, dessa forma, justificam a sua contribuição para o aumento da ciclagem e conseqüentemente disponibilidade de nutrientes no solo, bem como para o aumento da atividade microbológica. Entre esses fatores, destaque para (i) cultivo de pastagens no período de outono-inverno (Schmidt et al., 2009), (ii) efeito do pastejo (Carvalho et al., 2010; Assmann et al., 2017), (iii) adoção de semeadura direta (Assmann et al., 2014; Costa et al., 2014) e (iv) rotação de culturas (Mcdaniel e Grandy, 2016; Martins et al., 2017). A adoção dessas práticas em conjunto potencializa os benefícios alcançados na melhoria da qualidade do solo em relação a sua adoção de forma isolada (Anghinoni et al., 2013; Carvalho et al., 2010).

### **5.5.1 Pastagens no outono-inverno**

No período de outono-inverno (entressafra), usualmente, os campos explorados com arroz irrigado no Sul do Brasil ficam em pousio (SOSBAI, 2016). A inserção de pastagens nesse período é um “elemento chave” para o aumento da ciclagem de nutrientes (Figuras 14, 15 e 16), visto que predominantemente os solos cultivados com arroz irrigado (65%) são sedimentares, apresentam textura arenosa e baixos teores de matéria orgânica (<2,5%) (Boeni et al., 2010), que refletem em baixos teores de capacidade de troca de cátions (CTC) (Streck et al., 2008). Além disso, no período de outono inverno há alta ocorrência de precipitações pluviométricas intensas, na faixa de 600 a 800 mm de precipitação pluvial, que contribui para as perdas por lixiviação e/ou escoamento de nutrientes, principalmente nos solos que não são cultivados com pastagens ou culturas de cobertura nesse período. Esse cenário ocorre frequentemente nos campos de produção de arroz no Sul do Brasil, que é bem representado pelo T1 desse experimento. Assim, o uso de pastagens no período contribui significativamente para a redução do impacto da chuva, redução de escoamento, perda de solo e aumento substancial na retenção e ciclagem de nutrientes no solo, o que possivelmente pode estar contribuindo em parte para os maiores teores de nutrientes na solução do solo (Figuras 14, 15 e 16) e para atividade enzimática (Figura 17). Nesse experimento, o cultivo de azevém solteiro ou consorciado com trevo e cornichão pode ter contribuído para o aumento da

interceptação, absorção de nutrientes. Posteriormente ao final do ciclo de pastejo, com a senescência dessas plantas, boa parte desses nutrientes retornam ao solo a medida que o material orgânico é mineralizado (Figuras 14, 15 e 16). Alguns autores também verificaram que o cultivo de azevém aumenta a disponibilidade de Ca, Mg e K na solução do solo cultivado com arroz irrigado em sucessão (Schmidt et al., 2009).

O manejo das forrageiras no período hibernal também representa uma fertilização adicional no sistema, com cerca de  $110 \text{ kg ha}^{-1}$  de  $\text{P}_2\text{O}_5$  e  $\text{K}_2\text{O}$ . Como já é conhecido por alguns autores, pastagens bem manejadas e com níveis de fertilização adequados podem atuar eficientemente na ciclagem de nutrientes, disponibilizando quantidades médias de  $53,5 \text{ kg ha}^{-1}$  de N (Assmann et al., 2015),  $5,2 \text{ kg ha}^{-1}$  de P e  $34,1 \text{ kg ha}^{-1}$  de K (Assmann et al., 2017); quantidades essas presentes somente no residual de uma pastagem mantida a 20 cm, antecedendo ao cultivo de soja. Dessa forma, as pastagens dos diferentes arranjos SIPA do presente estudo certamente também estão intensificando a ciclagem de nutrientes no sistema, fazendo com que haja maiores teores desses macronutrientes na solução do solo, quando comparado ao sistema convencional (T1), com pousio no período hibernal.

Observa-se que os altos níveis de fertilização utilizados nos SIPA (Tabela 7) contribui sensivelmente para o aumento dos teores de nutrientes na solução do solo para a cultura do arroz irrigado, principalmente considerando-se que sob SIPA obteve-se na média dos 4 anos (2013-2016) aporte de N,  $\text{P}_2\text{O}_5$  e  $\text{K}_2\text{O}$  via fertilização 60, 201 e 107% superior em relação ao sistema tradicional representado pelo tratamento 1, que é o mais utilizado no RS em áreas de arroz. Logo, os maiores teores de amônio, fósforo e potássio na solução tem grande contribuição da fertilização adotada nos SIPA.

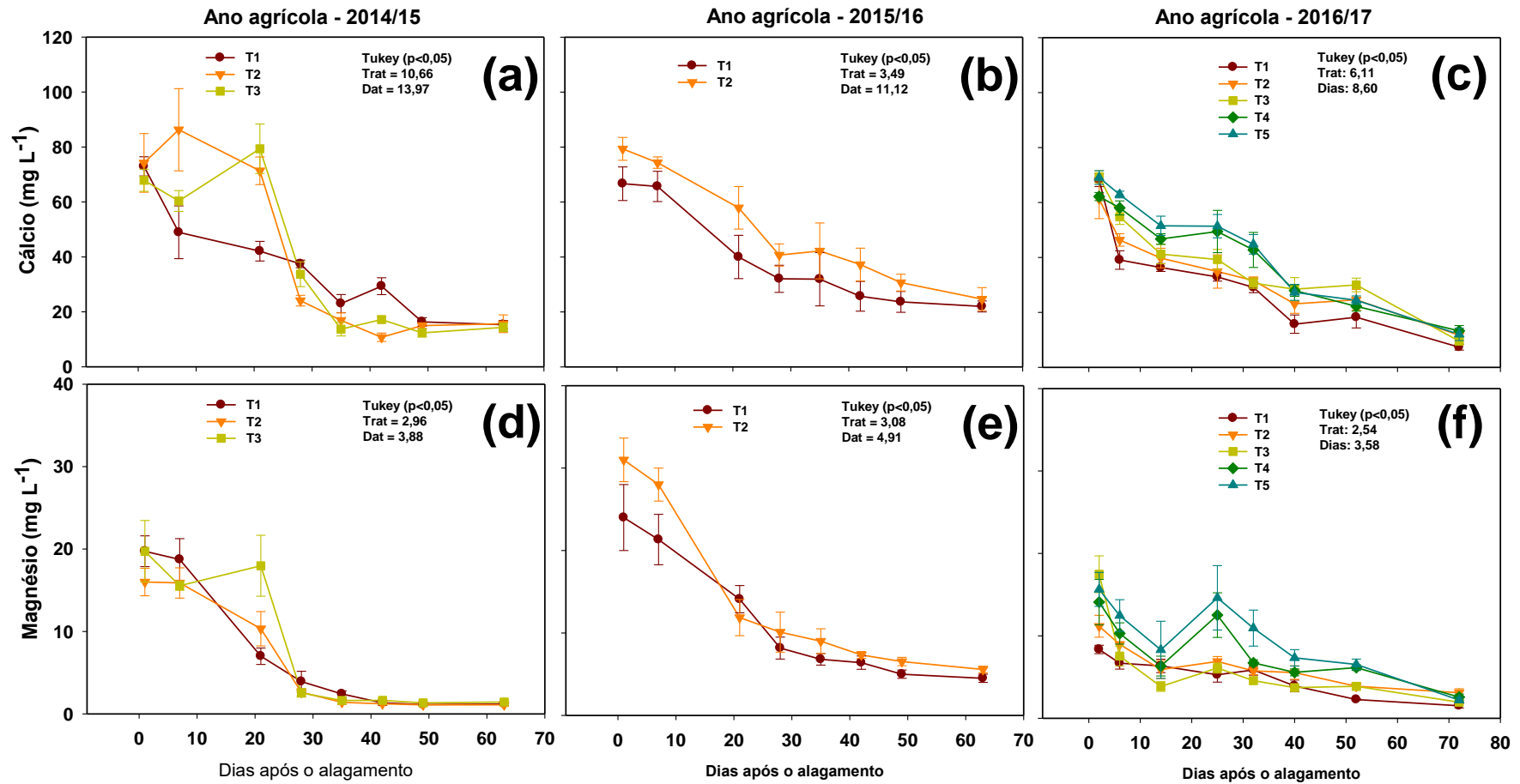


Figura 16. Teores de cálcio (a, b e c) e magnésio (d, e e f) na solução de um Planossolo conduzido sob diferentes sistemas de integração arroz pecuária de corte, nos anos agrícolas 2014/15, 2015/16 e 2016/17. T1: arroz contínuo com pousio no inverno, T2: arroz contínuo com pastejo sobre azevém no inverno, T3: rotação arroz/soja com pastejo sobre azevém no inverno, T4: rotação arroz/soja/milho com pastejo sobre azevém e trevo branco no inverno e T5: arroz cultivado em sucessão a três anos de azevém, cornichão e trevo branco no inverno e campo de sucessão no verão. Teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). Barras verticais incidam o desvio padrão.

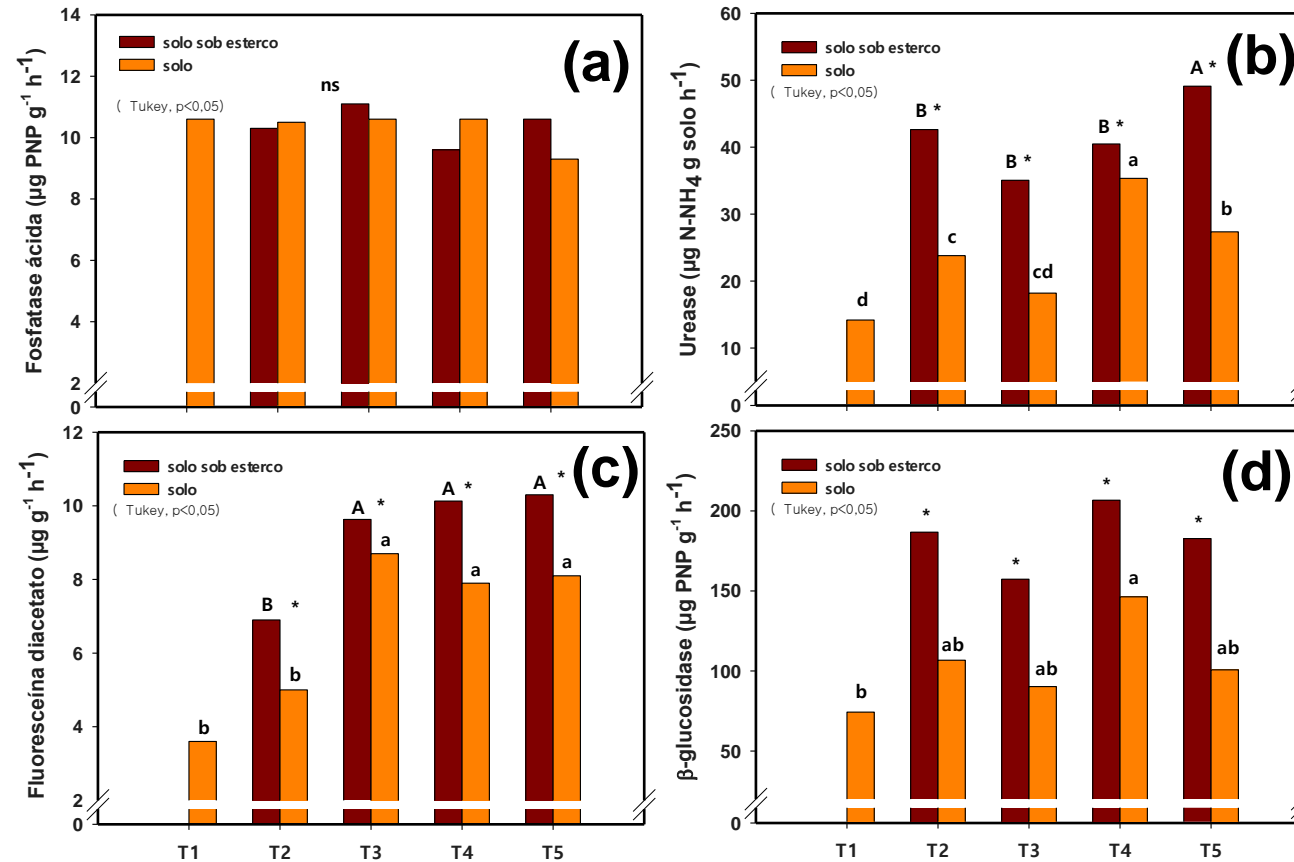


Figura 17. Atividade da fosfatase ácida (a), urease (b), esterase (c) e  $\beta$ -glucosidase (d) e em diferentes sistemas de integração arroz-pecuária de corte. T1: arroz contínuo com pousio no inverno, T2: arroz contínuo com pastejo sobre azevém no inverno, T3: rotação arroz/soja com pastejo sobre azevém no inverno, T4: rotação arroz/soja/milho com pastejo sobre azevém e trevo branco no inverno e T5: arroz cultivado em sucessão a três anos de azevém, cornichão e trevo branco no inverno e campo de sucessão no verão. Teste de Tukey ( $p < 0,05$ ) e \* indica diferença entre o solo coletado sob condição natural e o sob placas de esterco.



### 5.5.2 Efeito do pastejo

O pastejo afeta o fluxo de nutrientes nas pastagens em diversas formas, como o pisoteio, o consumo, a deposição de excretas, a redistribuição e a exportação de nutrientes (Lavado et al., 1996). A ingestão das plantas forrageiras pelos animais desencadeia uma série de alterações no seu desenvolvimento e, conseqüentemente, aumenta o crescimento e produção de biomassa vegetal (Carvalho et al., 2010). Essa condição impacta também no maior desenvolvimento do sistema radicular de plantas pastejadas, que exploram um volume maior do solo e, conseqüentemente, intensificam sua contribuição na interceptação, absorção e ciclagem de nutrientes (Anghinoni et al., 2013). Outro fator relevante é o retorno dos nutrientes de plantas forrageiras pastejadas ao solo via urina e esterco de animais (Carvalho et al., 2010; Assmann et al., 2017). Alguns estudos têm verificado que os animais exportam baixas quantidades de nutrientes nas suas carcaças, 2,8; 1,0 e 0,22 kg de N, P e K, respectivamente, para cada 100 kg de gado produzido (McDonald et al., 2010) e cerca de 80-90% desses nutrientes retornam ao solo via urina, esterco e resíduos vegetais em senescência (Assmann et al., 2017).

A maior disponibilidade de nutrientes dos tratamentos sob SIPA ocorreram no intervalo das três as cinco primeiras semanas (Figuras 14, 15 e 16). Essa condição pode estar relacionada, possivelmente, a liberação mais rápida dos nutrientes para a solução do solo por resíduos orgânicos sob pastejo. O pastejo desencadeia uma constante rebrota de folhas, colmos e perfilhos jovens, que possuem, em geral, maior labilidade e, conseqüentemente, uma mineralização e liberação de nutrientes mais rápida ao final do ciclo de pastejo (Assmann et al., 2017). Outro fator relevante é a liberação de nutrientes das excretas dos animais, principalmente os provenientes do esterco, que contribuem para a maior disponibilidade de nutrientes no solo (Carvalho et al., 2010). Essa rápida liberação no início do período de alagamento é importante para a nutrição do arroz irrigado, o qual demanda grandes quantidades de nutrientes na fase inicial de desenvolvimento de V3 a V9 (Carlos et al., 2016). Esse requerimento se deve especialmente ao amplo desenvolvimento dos

tecidos vegetais, ocasionado principalmente pela emissão de novos perfilhos e o alongamento da área foliar das plantas de arroz (Counce et al., 2000).

A digestão da biomassa vegetal das forrageiras pelo rúmen bovino possui um papel importante na liberação de nutrientes da dieta ingerida pelos animais (Cicek et al., 2014), pois a degradação de materiais vegetais pela microbiota ruminal é mais eficiente do que a comunidade microbiana do solo (Russelle, 1992). Isso se confirma pelo fato da biomassa vegetal ingerida pelos animais possuir menores quantidades de P disponível do que a massa fecal (esterco) (Whitehead, 2000) e pode ser mais eficiente na nutrição de plantas do que fertilizantes minerais. Da mesma forma que o P, o K também possui grande modificação da sua dinâmica em sistemas sob a inserção do animal (SIPA), tendo em vista que a maior parte desse elemento é eliminado na urina dos animais, retornando ao solo na forma iônica, prontamente disponível às plantas e à microbiota do solo (Assmann et al., 2017).

Além do efeito na maior produção de biomassa vegetal, a desfolha ocasionada pelo pastejo tem efeito na transferência de nutrientes, como o N oriundo da fixação biológica de nitrogênio (FBN) de leguminosas, como o trevo branco (*Trifolium repens L*) e o cornichão (*Lotus corniculatus L.*) que são cultivados nos tratamentos T4 e T5, para outras plantas não leguminosas como o azevém (Thilakarathna et al., 2016). O pastejo aumenta a exsudação de compostos ricos em N (Ofosu-Budu et al., 1995) e carbono (Carrillo et al., 2011), que aumentam a atividade metabólica do solo com reflexos na maior atividade de enzimas extracelulares e maior liberação de nutrientes no solo na forma mineral (Ayres et al., 2004, 2007). Alguns autores destacam que o pastejo também pode induzir a senescência de raízes e nódulos que contribuem para a transferência de N e outros nutrientes (Chesney e Nygren, 2002). O N disponível proveniente do pastejo de leguminosas pode permanecer no solo até 8 meses (Thilakarathna et al., 2016), período que seria compatível com o término do pastejo no período de outono/inverno e o suprimento para o arroz irrigado cultivado em sucessão na primavera/verão.

### 5.5.3 Efeito da semeadura direta

Além de possuir papel fundamental no aumento das formas orgânicas de nutrientes no solo, o aumento do carbono intensifica a produção de grupos orgânicos reativos, especialmente os grupos carboxílicos, que são os principais responsáveis pelo aumento da CTC do solo refletindo diretamente no aumento da retenção de cátions como o  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{Mg}^{2+}$  nos solos subtropicais (Liang et al., 2006). O  $\text{K}^+$  é um elemento que possui ligações de baixa energia com os complexos de sorção do solo e não é constituinte de compostos orgânicos. Dessa forma, a sua retenção em maior período nos tecidos vegetais, reduz suas perdas por lixiviação e escoamento superficial (Alvarez et al., 2017), especialmente no arroz irrigado que exporta, somente, cerca de 24% da quantidade do K que absorve (Carlos et al., 2016).

Em estudo conduzido no mesmo experimento, Martins et al. (2017) verificaram que a adoção dos SIPA aumenta os aportes de resíduos vegetais ao solo, com aumento significativo nos teores de carbono orgânico total e, principalmente, o carbono particulado com aumento da atividade da microbiota do solo. O uso de pastagens, principalmente de gramíneas tem demonstrado a importância do sistema radicular fasciculado na contribuição para agregação física do solo e proteção física da matéria orgânica, reduzindo sua decomposição (Chevallier et al., 2004). Soma-se ainda o efeito da semeadura direta proporcionando um rearranjo da estrutura do solo, reestabelecendo a biomassa microbiana e o acúmulo de resíduos vegetais em superfície, contribuindo para o aumento da retenção de nutrientes na superfície do solo e aumento dos estoques de carbono e N, criando condições mais adequadas ao desenvolvimento de plantas (Anghinoni et al., 2013).

### 5.5.4 Rotação de culturas

A rotação de culturas, com o cultivo da soja, milho e capim sudão, adotadas nos tratamentos T3 e T4, possui importância para diversificação do sistema produtivo (Mcdaniel e Grandy, 2016; Martins et al., 2017). A rotação

contribui para o aporte ao solo de resíduos vegetais de diferentes composições bioquímicas e reflete na atividade biológica, na agregação do solo e nos estoques de carbono (Mcdaniel and Grandy, 2016). Além desse fato, a diversificação de culturas; especialmente com o cultivo de leguminosas, como soja, o trevo branco e o cornichão; podem contribuir para o aporte de N atmosférico, via FBN (Hungria e Vargas, 2000) e impactam sobre a atividade de enzimas extracelulares no solo (Burns et al., 2013).

### **5.5.5 Enzimas extracelulares**

A atividade da microbiota do solo é o reflexo de todas as mudanças de ordem de fluxos de energia e nutrientes desencadeadas do pastejo, semeadura direta e rotação de culturas. A contribuição pelo alto aporte de resíduos vegetais, associada à alta densidade de raízes e a deposição de excretas animais, contribuem para o aumento da biomassa microbiana e da atividade de enzimática do solo sob SIPA (Martins et al., 2017). Além desses fatores, o aumento das formas lábeis de carbono contribui para o aumento da atividade microbiológica do solo. Como observado, a inserção do animal no sistema, da adoção da semeadura direta e da rotação de culturas, houve impacto positivo na esterase (FDA),  $\beta$ -glucosidase e urease (Figura 17), assim como observado por alguns autores (García-Orenes et al., 2010), os quais demonstram uma alta relação entre os teores de carbono orgânico e biomassa microbiana com a atividade da urease, fosfatase ácida, protease e sulfatase.

As condições sob placas de esterco ratificam a importância e o benefício da inserção do animal no sistema, onde, a exceção da fosfatase ácida, a atividade das enzimas foi superior em relação ao solo sob condição natural (Figura 17). Sabe-se que a deposição de esterco contribui significativamente para o aporte de fontes lábeis de carbono e de nutrientes prontamente disponíveis no solo. Essas duas condições, associadas a condições ambientais favoráveis, aceleram o metabolismo microbiano e a atividade de enzimas extracelulares no solo (Burns et al., 2013).

Alguns estudos verificaram a forte associação da atividade da  $\beta$ -glucosidase com os teores de carbono no solo (Cenini et al., 2016). Esses

autores verificaram que, quanto maior o período de adoção de pastagens perenes, maior é a contribuição para os estoques de carbono e maior é a atividade da enzima  $\beta$ -glucosidase, como evidenciado no T5. Em solos cultivados com pastagens, a celulose representa uma significativa proporção de resíduos vegetais que retornam ao solo e a  $\beta$ -glucosidase é uma enzima que possui papel importante na despolimerização da celobiose e transformação em glicose (Sinsabaugh e Shah, 2011). Recentes estudos correlacionaram a capacidade de produção de biomassa vegetal das plantas e sua relação com a atividade da  $\beta$ -glucosidase e o sequestre de carbono no solo (Peregrina et al., 2014).

Por fim, o aumento da disponibilidade de nutrientes e o aumento da atividade microbiana do solo podem se refletir em condições mais propícias ao desenvolvimento de plantas (Anghinoni et al., 2013). Um trabalho realizado em quatro distintas lavouras sob SIPA no Sul do Brasil observou que os rendimentos de arroz irrigado aumentam e a resposta à fertilização diminui com o aumento do período de adoção dos sistemas de integração entre lavouras de arroz e pecuária de corte (Carmona et al., 2016). Esse trabalho demonstra a importância da adoção dos SIPA nos ambientes subtropicais de terras baixas do Sul do Brasil, que apresentam em algumas situações problemas recorrentes devido à alta especialização do cultivo e simplificação do manejo (Andres et al., 2001; Martins et al., 2017). Áreas em monocultivo, pouca rotação de culturas, e pousio no período de outono/inverno convergem para a redução dos níveis de fertilidade do solo e requerem altos aportes de fertilizantes minerais para a obtenção de rendimentos satisfatórios de arroz irrigado (Carmona et al., 2016).

## **5.6 Conclusões**

A adoção de sistemas integrados de produção agropecuária (SIPA) em terras baixas aumenta a disponibilidade dos principais macronutrientes para a cultura do arroz irrigado.

Os SIPA aumentam a atividade das enzimas extracelulares a medida que se incrementa os níveis de diversificação dos sistemas em terras baixas sob cultivo de arroz irrigado.

A maior disponibilidade de nutrientes para as plantas e o aumento da atividade das principais enzimas envolvidas nesse processo demonstram a importância desse sistema como alternativa para se atingir a melhoria da qualidade do solo em ambientes de terras baixas do RS.

## **6 CAPÍTULO 5 – ESTUDO 4: CULTURAS DE COBERTURA EM SOLOS CULTIVADOS COM ARROZ IRRIGADO POR LONGO PRAZO: ESTOQUES DE CARBONO, NITROGÊNIO, ATIVIDADE ENZIMÁTICA E PRODUTIVIDADE**

### **6.1 Resumo**

O uso de culturas de cobertura e a adoção de semeadura direta são práticas conservacionistas imprescindíveis para aumento de estoques de carbono e nitrogênio e para o incremento da atividade da microbiota do solo. Contudo, em áreas de grande expressão de cultivo de arroz irrigado, como na Ásia e na América do Sul, a semeadura direta e o uso de culturas de cobertura são práticas incipientes. Nesse sentido, esse trabalho de longo prazo teve o objetivo de avaliar a atividade de enzimas extracelulares, os estoques de carbono e nitrogênio e a produtividade de grãos de arroz irrigado cultivado por longo prazo em semeadura direta em sucessão a diferentes culturas de cobertura no Sul do Brasil. Os tratamentos consistiram de quatro espécies de coberturas de outono-inverno: Azevém (*Lolium multiflorum*), Aveia (*Avena strigosa*), Serradela nativa (*Ornithopus micranthus*), Cornichão (*Lotus corniculatus*), pousio em semeadura direta e pousio sob preparo convencional. O experimento foi conduzido na Estação Experimental do Arroz, Cachoeirinha-RS, teve início no ano agrícola de 1996/97. Foram avaliados os teores e os estoques de carbono e nitrogênio no solo, a atividade de enzimas extracelulares e a produtividade da cultura do arroz irrigado, fertilizado em diferentes momentos, cultivado em sucessão às culturas de cobertura de outono-inverno. Observou-se que o uso de coberturas de solo, associado à adoção da semeadura direta, são importantes estratégias para o aumento dos estoques de carbono e nitrogênio no solo, contribuindo, também, para o aumento da atividade da microbiota do solo e,

consequentemente, da produtividade de arroz irrigado quando fertilizando em diferentes momentos. Nesse cenário, o uso de coberturas de solo e a semeadura direta são práticas importantes para o aumento dos estoques de carbono e nitrogênio e para o aumento da atividade enzimática do solo.

**Palavras chave:** *Oryza sativa L.*, manejo conservacionista do solo.

## 6.2 Introdução

Práticas conservacionistas de solo, tais como o uso de culturas de cobertura no outono-inverno e da semeadura direta, são fundamentais para manutenção da qualidade dos solos (Calegari et al., 2013), principalmente em condições subtropicais, como no Sul do Brasil (Balota et al., 2014a). Inúmeros benefícios decorrem do uso de culturas de coberturas, tais como maior estabilidade ao solo (Hill et al., 2016), redução do estabelecimento de plantas daninhas (O'Reilly et al., 2012) e aumento da disponibilidade de nitrogênio no período de desenvolvimento das culturas com fins de interesse econômico (O'Reilly et al., 2012; O'Connell et al., 2015).

A redução do preparo do solo e o uso de coberturas são práticas que minimizam a erosão do solo, melhoram a qualidade do solo e da água e aumentam a produtividade das culturas (Sun et al., 2015). A qualidade do solo é um termo genérico utilizado para definir a “capacidade do solo em funcionar como um sistema vivo, dentro dos limites do ecossistema e uso da terra, mantendo a produtividade ecológica, a qualidade do ar, água e do ambiente, além de promover a saúde das plantas, animais e humanos” (Doran e Zeiss, 2000).

Sistemas agrícolas que aumentam os estoques de carbono e nitrogênio são fundamentais para manutenção da sustentabilidade da agricultura (Bayer et al., 2004). Muitos trabalhos têm relacionado o aumento dos teores de carbono à qualidade física, química e biológica do solo, bem como à atenuação do aquecimento global por meio do sequestro de C-CO<sub>2</sub> da atmosfera, com adoção da semeadura direta em muitos locais do mundo (Dossou-Yovo et al., 2016; Congreves et al., 2017) e na condição tropical brasileira (Bayer et al., 2002;



Assmann et al., 2014; Martins et al., 2017). Contudo, adoção isolada da semeadura direta não permite atingir o potencial máximo de acúmulo de C no solo (Santos et al., 2011), principalmente levando em consideração o grande potencial de aporte de biomassa vegetal pelo cultivo intercalado de pastagens ou coberturas de solo no período de outono inverno (Martins et al., 2017).

Alguns trabalhos têm observado que o uso de pastagem no período de outono-inverno sob pastejo possui resultados promissores para o aumento dos estoques de carbono no solo e para as frações lábeis do carbono no solo (Assmann et al., 2014; Martins et al., 2017). O Sul do Brasil foi uma das regiões pioneiras no mundo na conversão de áreas conduzidas sob preparo convencional para a semeadura direta, principalmente pelos altos índices pluviométricos, que desencadeavam grandes volumes de perda de solo (Sá, 1999). Esse sistema de produção de alimentos, fibra e energia sustentável atingiu cerca de 105 milhões de ha no mundo, sendo que a América do Sul possui destaque na adoção, principalmente o Brasil e a Argentina, que possuem 25 e 19 milhões de hectares sob esse sistema, respectivamente (Derpsch et al., 2009). Contudo, os solos tradicionalmente cultivados com arroz irrigado de terras baixas não passaram por essa transição. A grande quantidade de rastros ocasionados pelo tráfego de colhedoras nos solos hidromórficos, a grande dificuldade de decomposição de resíduos de arroz após a colheita (resteva) e a suposta ausência de erosão estão entre os fatores que conduzem os produtores à necessidade de se fazer o preparo do solo (Botta et al., 2015).

O uso de culturas de cobertura é outra prática incomum em solos cultivados com arroz irrigado (SOSBAI, 2016). Nas condições tropicais do Sul do Brasil há um grande leque de coberturas de solo, contudo, poucas são as espécies que possuem adaptação às condições de excessiva umidade do solo recorrente nos solos hidromórficos (Menezes et al., 2001). Além disso, operacionalmente, a alta quantidade de biomassa vegetal de coberturas ao final do ciclo pode comprometer a semeadura de arroz irrigado. Alguns trabalhos demonstram que quantidades de matéria seca vegetal superior a 800 kg ha<sup>-1</sup> reduzem produtividade de arroz irrigado (Hidalgo et al., 2009). Um outro fator limitante é a formação de compostos alelopáticos que podem interferir no desenvolvimento inicial de plântulas de arroz irrigado (Bohnen et al., 2005). Com

o alagamento e a posterior redução dos níveis de oxigênio no solo, inicia-se um processo anaeróbio de decomposição de resíduos vegetais, com formação de alguns compostos orgânicos que podem ser tóxicos ao desenvolvimento de plantas de arroz (Ponnamperuma, 1972; Bohnen et al., 2005).

No solo, os microrganismos possuem papel fundamental sobre a ciclagem de nutrientes, na qual ocorrem reações e processos metabólicos mediados por enzimas sintetizadas e excretadas por fungos e bactérias (Burns et al., 2013; Lange et al., 2015). A atividade de enzimas extracelulares tem sido usada como um indicador da intensidade dos processos metabólicos que ocorrem no solo (Bastida et al., 2012; Balota et al., 2014a; Pandey et al., 2014). Os microrganismos também possuem papel importante na produção de polissacarídeos, que afetam a estabilidade e o sequestro de carbono (Balota et al., 2014a). Alguns trabalhos têm demonstrado a importância de culturas de cobertura sobre o aumento da atividade de enzimas extracelulares no solo (Balota et al., 2014a). Contudo, em ambientes que envolvem o cultivo de arroz irrigado sob semeadura direta, essas informações ainda são incipientes (Martins et al., 2017).

Assim, as culturas de cobertura de solo possuem reflexos imediatos sobre os fluxos de energia e nutrientes, atividade microbiana e os estoques de carbono no solo, podendo afetar, conseqüentemente, o desenvolvimento e a produtividade de culturas agrícolas (Alvarez et al., 2017). Na grande maioria de trabalhos que avaliam o cultivo de milho em sucessão a coberturas de solo, as produtividades de grãos foram similares ou superiores comparado as condições em pousio (Miguez e Bollero, 2005; O'Reilly et al., 2012). Contudo, o aumento ou a redução da produtividade está muito relacionado à espécie de cultura de cobertura, se gramínea ou leguminosa, sendo que as condições meteorológicas são relatadas como fatores preponderantes para o sucesso no desempenho de coberturas de solo (Alvarez et al., 2017).

No cenário de produção de arroz irrigado, ainda são inconsistentes as informações relacionadas à contribuição de culturas de cobertura, leguminosas e gramíneas, sob semeadura direta e seus impactos na expressão bioquímica do solo, nos estoques de carbono, nitrogênio e na produtividade das culturas agrícolas.

Dessa forma, esse trabalho tem o objetivo de avaliar a atividade de enzimas extracelulares, os teores e estoques de carbono e nitrogênio e a produtividade de grãos de arroz irrigado cultivado por longo prazo em semeadura direta em sucessão a diferentes culturas de cobertura no Sul do Brasil.

### **6.3 Material e métodos**

#### **6.3.1 Local**

O experimento iniciou-se no ano agrícola 1996/97 na Estação Experimental do Arroz, do Instituto Rio Grandense do Arroz, localizada no município de Cachoeirinha-RS, região fisiográfica da Depressão Central do Estado do Rio Grande do Sul, com coordenadas 29°55'30" de latitude Sul e 50°58'21" de longitude Oeste e 7 m de altitude. O solo do protocolo experimental é classificado como Gleissolo háplico (Streck et al., 2008). Na implantação do protocolo experimental, as características do mesmo na camada de 0-20 cm, foram: 140 g kg<sup>-1</sup> de argila (pipeta); 16 g kg<sup>-1</sup> de matéria orgânica (Walkley-Black); 9,8 mg dm<sup>-3</sup> de P (Mehlich-1); 25 mg dm<sup>-3</sup> de K (Mehlich-1); 1,2 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> de Ca (KCl 1 mol L<sup>-1</sup>) e 0,4 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> de Mg (KCl 1 mol L<sup>-1</sup>) (Menezes et al., 2001). A temperatura média do mês mais frio (junho) é de 14,3 °C, a do mês mais quente (janeiro) é de 25,2 °C e a média anual de 19,6 °C. O clima do local é subtropical úmido com precipitação média anual de 1.398 mm.

#### **6.3.2 Tratamentos e delineamento experimental**

O delineamento experimental utilizado foi de blocos ao acaso, dispostos em parcelas divididas, com quatro repetições. Na parcela principal foram locadas as coberturas de solo, sendo distribuídas em seis tratamentos: I) Azevém (*Lolium multiflorum*), II) Aveia preta (*Avena strigosa*), III) Serradela (*Ornithopus micranthus*), IV) Cornichão (*Lotus corniculatus* L.), V) pousio sob semeadura direta e VI) pousio sob preparo convencional. A exceção do tratamento VI, que foi conduzido sob preparo convencional, em todos os demais a semeadura do arroz foi realizada sem prévio revolvimento do solo (semeadura

direta). Cada parcela tinha 5 m de largura e 8,75 m de comprimento, totalizando uma área de 43,75 m<sup>2</sup>.

### **6.3.3 Manejo do arroz irrigado**

O arroz foi estabelecido diretamente sobre as coberturas dessecadas pela aplicação de herbicida glifosato (4 L ha<sup>-1</sup> de i.a.), realizada em torno de 30 dias antes da semeadura. Foi utilizada a cultivar IRGA 424 RI com densidade de semeadura de 100 kg ha<sup>-1</sup>, realizada na segunda quinzena de outubro nos dois anos de avaliação (2014/15 e 2015/16). A adubação, nos dois anos agrícolas, foi de 150, 108 e 68 kg ha<sup>-1</sup> de N, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> e K<sub>2</sub>O. A adubação de P e K foi aplicada na semeadura e o N fracionado, com 66% da dose no estágio fenológico V3-V4 e o restante 34% na diferenciação do primórdio da panícula (R0) (Counce et al., 2000). Nos anos agrícolas 2014/15 e 2015/16 foi feito um manejo diferente da fertilização com o objetivo de avaliar a ciclagem de nutrientes das culturas de cobertura em uma divisão da parcela principal em duas sub-parcelas. Em uma sub-parcela foi feita a fertilização do arroz no estabelecimento das plantas de cobertura e, no período de verão não se aplicou adubo na cultura do arroz. Já na outra sub-parcela foi feita a fertilização convencional realizada diretamente na cultura do arroz. O manejo de plantas daninhas e insetos-praga sempre foi feito conforme preconiza os resultados de pesquisa para alta produtividade de arroz irrigado (SOSBAI, 2016).

### **6.3.4 Avaliação de enzimas extracelulares**

Metodologias descritas nos itens 3.3.7, 3.3.9 e 3.3.10.

### **6.3.5 Teores totais de carbono e nitrogênio no solo**

O solo foi coletado em setembro de 2015, 18 anos após o início da implantação do experimento (setembro de 1996). Os teores de C e N foram analisados em oito camadas de solo: 0-2,5; 2,5-5,0; 5-7,5; 7,5-10; 10-15; 15-20; 20-30 e 30-40 cm. As amostras de solo resultaram de quatro sub-amostras

coletadas em cada parcela do experimento. O solo foi seco (45 °C) e peneirado em malha de 2 mm para posterior análise. Posteriormente, as amostras de solo foram moídas em almofariz de ágata e enviadas para determinação dos teores totais de carbono e nitrogênio em um analisador elementar Shimadzu. Para cálculo de estoques de carbono e nitrogênio foi utilizada a densidade do solo determinada a partir da coleta do solo em anéis de 160 cm<sup>3</sup> (Tabela 8).

Tabela 8. Densidade do solo sob diferentes culturas de cobertura de solo.

Camada (cm)	PC	SD
	-----Mg m <sup>-3</sup> -----	
0,0-2,5	1,37	1,62
2,5-5,0	1,37	1,62
5,0-7,5	1,71	1,64
7,5-10	1,71	1,64
10-15	1,80	1,80
15-20	1,79	1,84
20-30	1,79	1,84
30-40	1,79	1,84

PC: preparo convencional e SD: semeadura direta.

### 6.3.6 Produtividade de grãos de arroz irrigado

A produtividade de grãos, realizada nos anos agrícolas 2014/15 e 2015/16, foi determinada a partir da colheita de uma parcela de 4 m de comprimento e 7 linhas de plantas, com espaçamento entre linhas de 0,17 m, totalizando uma área útil de 4,76 m<sup>2</sup>. Posteriormente, as amostras foram trilhadas, sendo determinados o peso e a umidade de grãos. A umidade dos grãos foi ajustada para 13% para determinação da produtividade.

### 6.3.7 Aporte de carbono ao solo pelas coberturas

O cálculo das adições de carbono ao solo pelas culturas foi determinado pela produção de matéria seca da parte aérea das coberturas, coletadas em dois anos seguidos, 2014/15 e 2015/16, em duas amostras de 0,5 m<sup>2</sup> por parcela. Para o arroz, o mesmo procedimento foi feito após a colheita de grãos. Para determinação da quantidade de resíduos vegetais aportados pelas raízes das plantas foi considerado o valor de 30% da adição em relação à parte

área (Insalud et al., 2006). Assumiu-se que a concentração de carbono no tecido vegetal da parte aérea e das raízes é de 400 g kg<sup>-1</sup> (Santos et al., 2011)

### **6.3.8 Análise estatística**

Os atributos de solo e a produtividades de grãos foram submetidos à análise de variância e, quando significativos, foram submetidos ao teste de Tukey, ao nível de 5% de significância. Também foram utilizadas análises estatísticas multivariadas entre as seguintes variáveis desse estudo: fluoresceína diacetato (FDA), matéria seca da parte aérea aportada pelas culturas de cobertura (*C\_shoots*); matéria seca de raízes aportada pelas culturas de cobertura (*C\_roots*); Urease: enzima; CO<sub>2</sub>: respiração basal do solo; enzima β-glucosidase (*B\_glu*); produtividade (média dos anos) de arroz sem fertilização (*yield\_without*); produtividade (média dos anos) de arroz com fertilização (*Yield\_fert*); estoque de carbono no solo na camada de 0-20 cm (*C\_stock*) e estoque de nitrogênio no solo na camada de 0-20 cm (*N\_stock*). Para este procedimento, os dados foram analisados por meio de análise multivariada de ordenação (Sokal, 1979). A ordenação foi feita pelo modo automático do programa estatístico SPSS 24. Correlação de Pearson foi feita entre os atributos microbiológicos do solo, estoques de C e N, adição de C pelos resíduos vegetais e produtividade de arroz irrigado, usando o programa estatístico SPSS 24.

## **6.4 Resultados**

### **6.4.1 Atividade microbiana do solo**

Observou-se diferença estatística entre as diferentes coberturas de solo e o manejo do solo por longo prazo nas atividades da β-glucosidase e da urease; contudo, não se observou mudanças significativas na atividade da esterase (FDA) (Figuras 18A, 18B e 18C). As principais diferenças observadas na atividade das enzimas foram observadas em decorrência da semeadura direta. As menores atividades da β-glucosidase e da urease foram observadas no tratamento em pousio sob preparo convencional. Entre as coberturas de solo, não se observou distinção significativa para β-glucosidase. Entretanto, para a

enzima urease, observou-se menor atividade sob o cultivo de azevém. Por fim, a atividade da esterase (FDA) não foi influenciada pelo cultivo de longo prazo das diferentes coberturas de solo no outono-inverno e do arroz irrigado.

#### **6.4.2 Aporte de resíduos**

Em relação ao aporte de carbono pelos diferentes sistemas, observa-se que, independentemente da cultura de cobertura de solo, a cultura do arroz possui mais que o dobro da capacidade de adição de carbono do que as culturas de cobertura (Tabela 9). A grande maioria dos tratamentos apresentaram adição similar de carbono por plantas de arroz, exceto o arroz cultivado em sucessão ao cornichão que foi superior no preparo convencional.

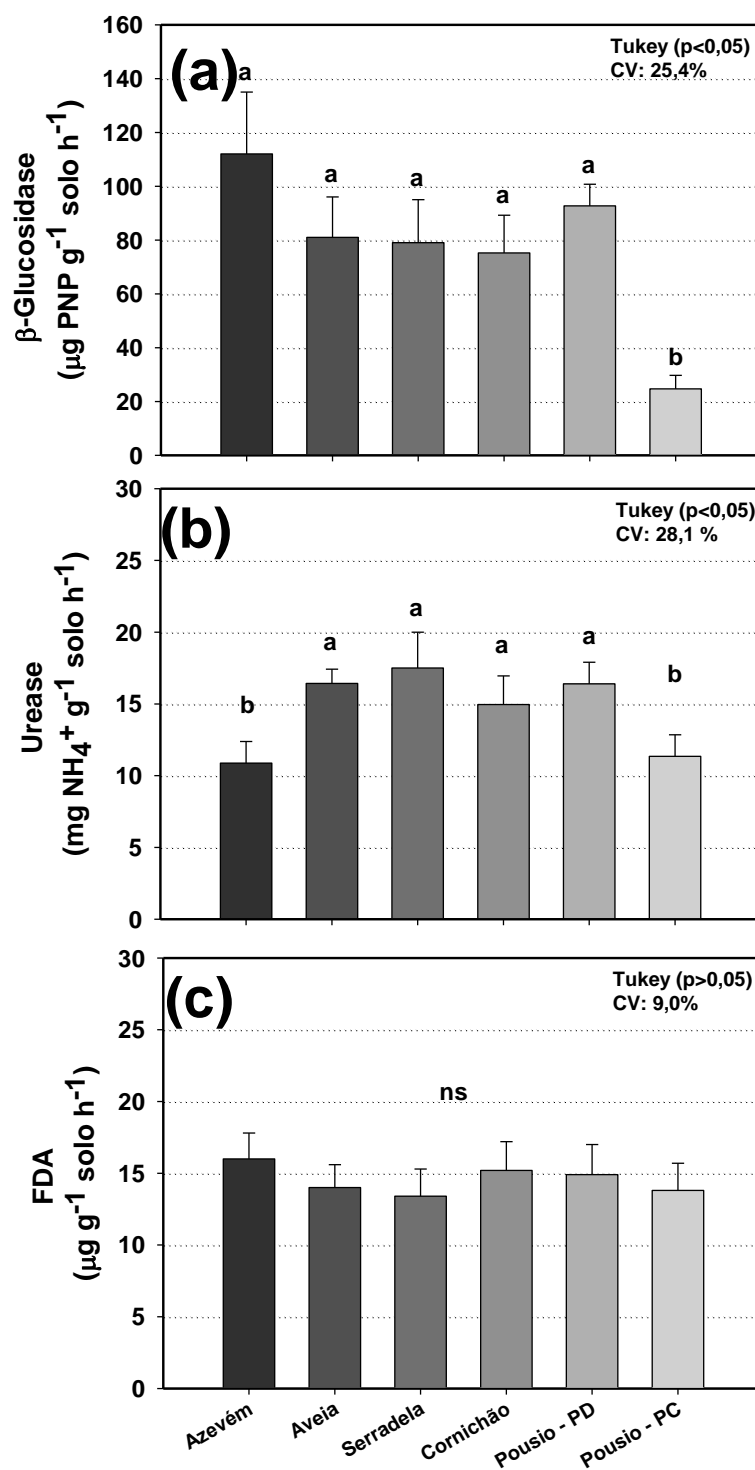


Figura 18. Atividade da  $\beta$ -glucosidase (a), da urease (b) e esterase (FDA) (c) de um Gleissolo Háplico cultivado a 20 anos com arroz irrigado sob diferentes culturas de cobertura. Cachoeirinha, 18 anos de condução. Barras verticais indicam o desvio padrão. Tukey ( $p < 0,05$ ), ns: não diferiu estatisticamente.



Para as coberturas verificou-se que as maiores adições de carbono, tanto por parte aérea e raízes, foram pelo azevém e cornichão, a aveia e a serradela aportaram quantidades intermediárias de C e posteriormente o pousio em semeadura direta e por fim a menor adição de C foi pelo pousio convencional (Tabela 9).

Tabela 9. Adição de carbono ao solo pela parte aérea e pelas raízes de arroz irrigado e pelas espécies de cobertura de solo na média dos anos agrícolas 2014/15 e 2015/16. Cachoeirinha-RS.

	Azevém	Aveia	Serradela	Cornichão	Pousio SD	Pousio PC
	----- Arroz (Mg ha <sup>-1</sup> ano <sup>-1</sup> ) -----					
Parte aérea	3379 ab*	3344 ab	3351 ab	3401 a	3379 ab	3171 b
Raízes	1014 ab	1003 ab	1005 ab	1020 a	1011ab	951 b
	----- Culturas de cobertura (Mg ha <sup>-1</sup> ano <sup>-1</sup> ) -----					
Parte aérea	1415 a	1144 b	1079 b	1192 ab	468 c	197 d
Raízes	424 a	343 b	324 b	357 ab	140 c	59 d

\* Teste de Tukey (p<0,05)

#### 6.4.3 Teores e estoques de carbono e nitrogênio no solo

O cultivo por longo prazo de culturas de cobertura influenciaram os teores de carbono e nitrogênio no solo (Figuras 19A e 19B) e, conseqüentemente, os estoques desses elementos, principalmente na camada superficial (Figura 20A e 20B). O pousio sob preparo convencional foi o tratamento que apresentou os menores teores de C e N em superfície, enquanto que o pousio sob semeadura direta apresentou teores intermediários entre o convencional e os tratamentos cultivados com coberturas, que apresentaram maiores concentrações de C e N em superfície (0-5 cm). Serradela e aveia foram as culturas que apresentaram os maiores teores de carbono em superfície e, conseqüentemente, o maior estoque (Figuras 19A). Com relação aos estoques de N, a serradela demonstrou ser a principal cobertura a aportar N no solo. Essa espécie demonstrou capacidade de incrementar os teores de C, tanto em superfície, quanto em profundidade. Por outro lado, foram observados menores teores de N em superfície (0-5 cm) sob os cultivos de aveia e cornichão comparado à serradela (Figura 19B). Já o preparo convencional, foi o tratamento

que apresentou os menores teores e, conseqüentemente, os menores estoques de N no solo.

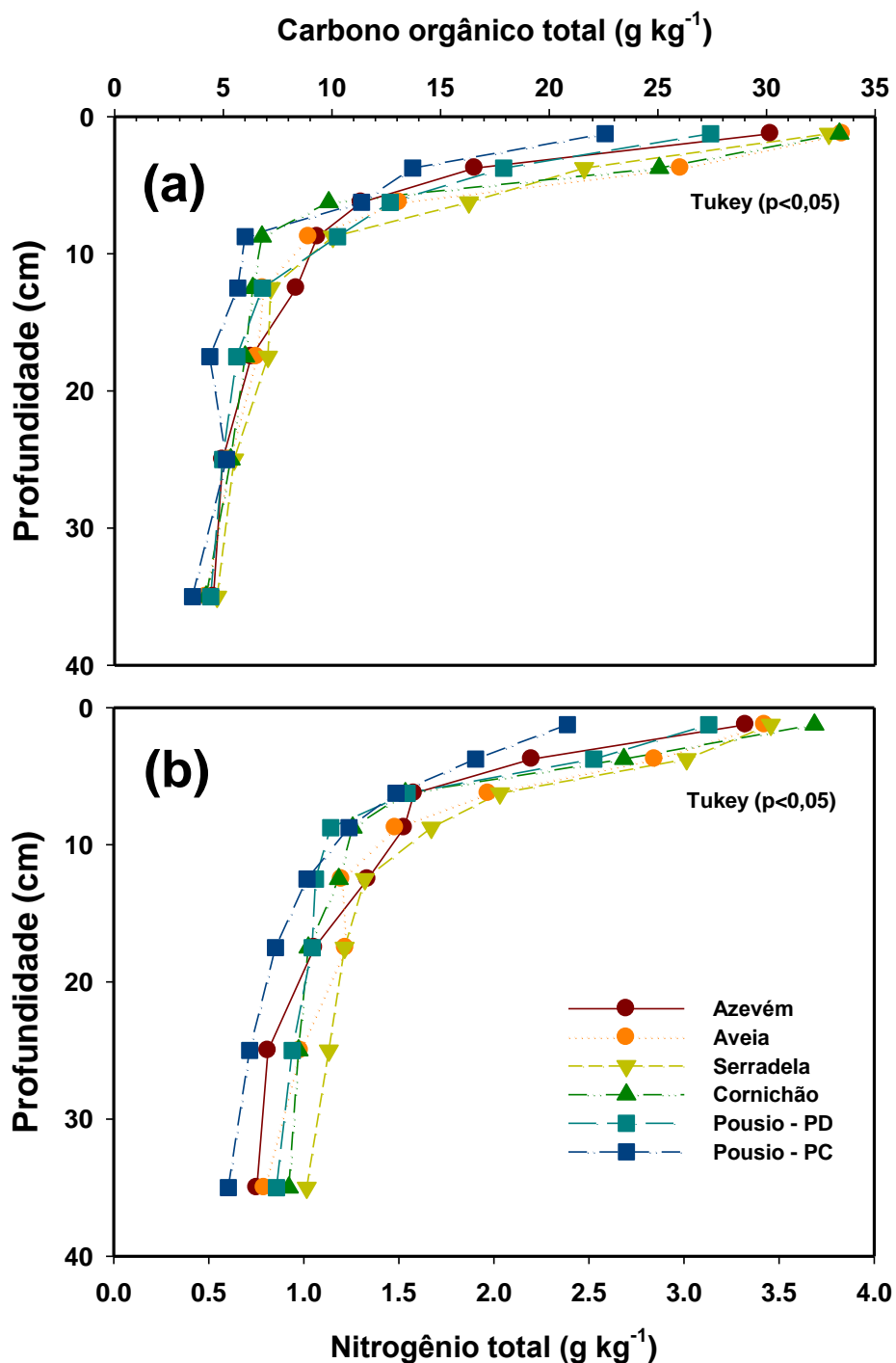


Figura 19. Teores de carbono orgânico total (a) e nitrogênio total (b) de um Gleissolo Háplico, estratificado na camada de 0-40 cm, cultivado sob diferentes culturas de cobertura no outono-inverno. Barras horizontais indicam a diferença mínima significativa. Azevém (*Lolium multiflorum*), aveia (*Avena strigosa*), serradela (*Ornithopus micranthus*), cornichão (*Lotus corniculatus*). Cachoeirinha, 2016. Tukey ( $p < 0,05$ ).

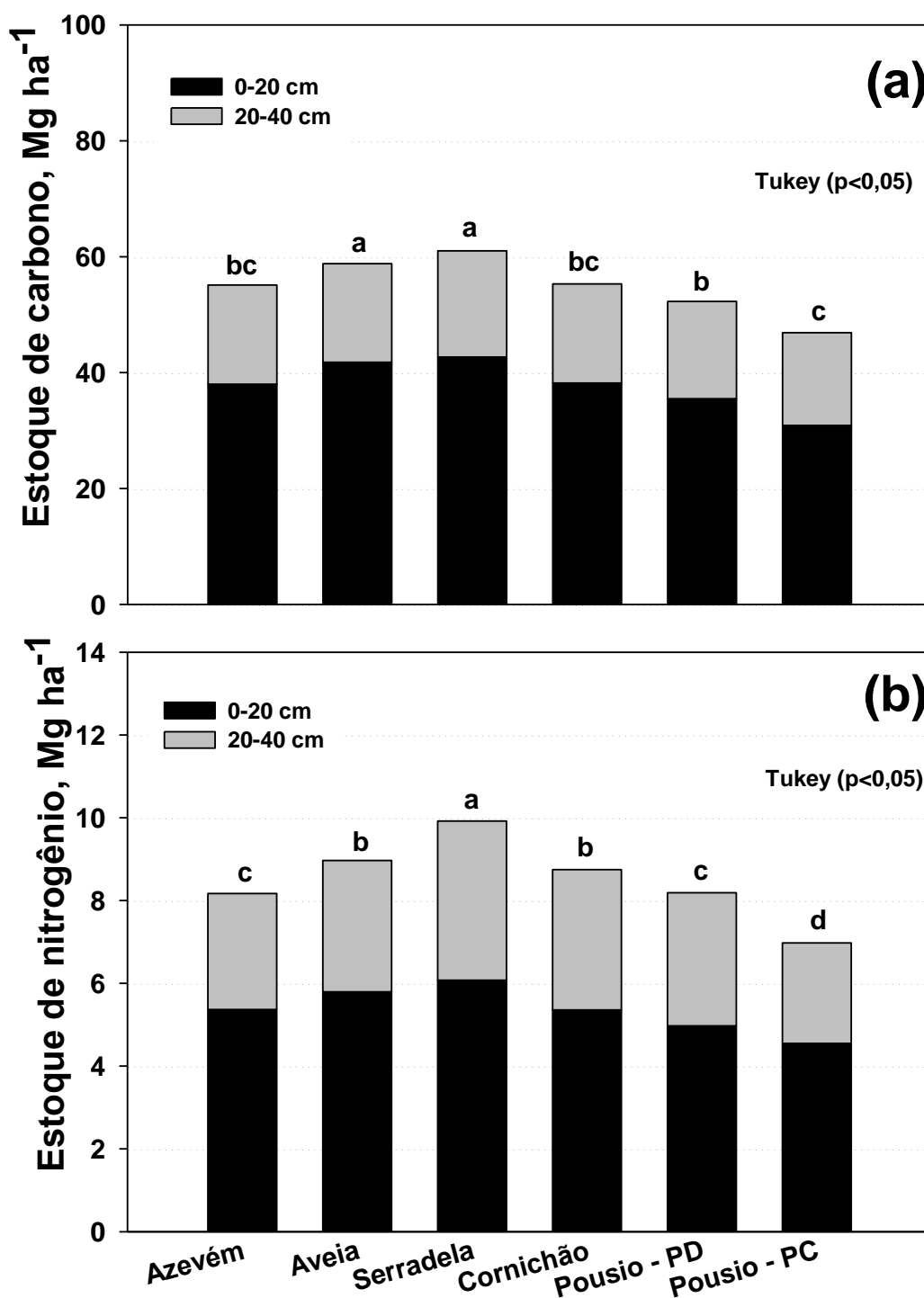


Figura 20. Estoques de carbono (a) e nitrogênio (b) nas camadas de solo de 0-20 e 20-40 cm sob cultivo de diferentes culturas de cobertura de outono-inverno em áreas cultivadas com arroz irrigado por longo prazo. Azevém (*Lolium multiflorum*), aveia (*Avena strigosa*), serradela (*Ornithopus micranthus*), cornichão (*Lotus corniculatus*). Cachoeirinha, 2016. Tukey ( $p < 0,05$ ).

#### 6.4.4 Produtividade de grãos de arroz irrigado

Em ambos os anos agrícolas (2014/15 e 2015/16), nos tratamentos em que o arroz recebeu fertilização, as produtividades de arroz não variaram em função de coberturas de solo no outono-inverno (Figura 21). Contudo, em condições em que a fertilização foi feita nas culturas de cobertura de inverno, onde é mais clara a avaliação da contribuição de ciclagem de nutrientes, observou-se que os tratamentos que foram precedidos por culturas de cobertura, tiveram maior produtividade em relação aos tratamentos em pousio sob semeadura direta e pousio sob preparo convencional.

#### 6.4.5 Correlação de variáveis

Correlações significativas entre as variáveis microbianas e os outros atributos são observados na tabela 10. Verificou-se fortes correlações entre estoques de carbono e de nitrogênio no solo (0-20 cm) e atividades da Urease, da  $\beta$ -glucosidase e da respiração basal ( $\text{CO}_2$ ). Contudo, a atividade da esterase (FDA) e a matéria seca adicionada pela parte aérea das coberturas de inverno (*C\_shoots*) não apresentaram correlação significativa com a maioria dos atributos estudados. Já as produtividades de arroz irrigado, nos tratamentos sem e com fertilização, apresentaram correlação significativa com estoques de carbono e de nitrogênio e com teores de biomassa vegetal adicionada pelas raízes das plantas (arroz e plantas de cobertura).

#### 6.4.6 Análise multivariada

A análise estatística multivariada mostra que mais de 45 % da variabilidade dos dados é explicada pelo fator 1, e cerca de 17 % da variabilidade explicada pelo fator 2 (Figura 22). As variáveis que mais se correlacionaram com o fator 1, foram estoque de carbono, estoque de N, biomassa vegetal adicionada pelas raízes das culturas de cobertura e arroz, atividade da  $\beta$ -glucosidase, produtividade de arroz com e sem fertilização e respiração basal do solo (Tabela

11). Por outro lado, a biomassa vegetal aportada pela parte aérea das culturas e a atividade da urease tiveram maior correlação com o fator 2.

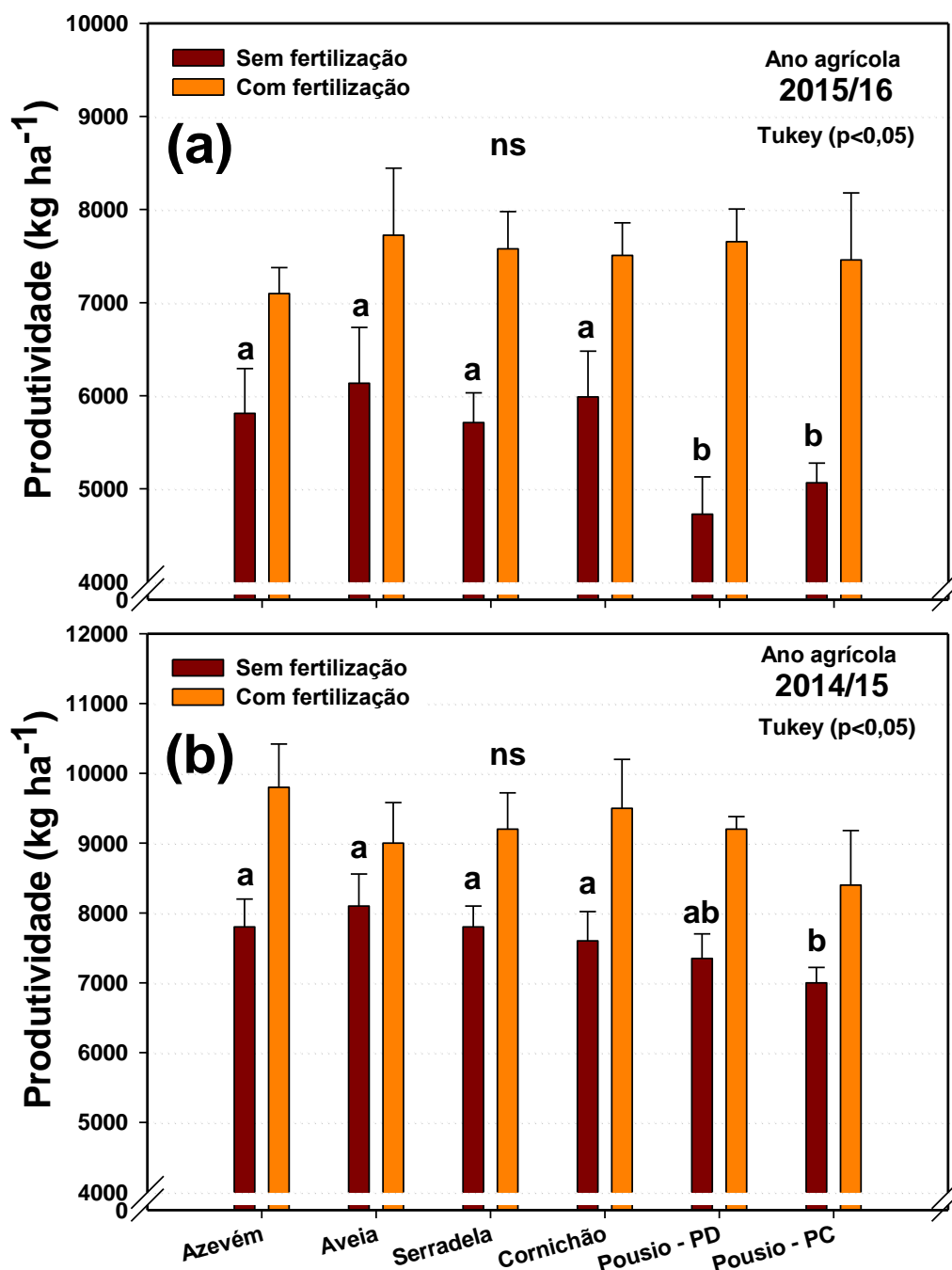


Figura 21. Produtividade de arroz irrigado cultivado em sucessão a diferentes culturas de cobertura no período de outono-inverno, com e sem fertilização no ciclo do arroz irrigado nos anos agrícolas 2015/16 (a) e 2014/15 (b). Cachoeirinha. Barras verticais indicam o desvio padrão. Azevém (*Lolium multiflorum*), aveia (*Avena strigosa*), serradela (*Ornithopus micranthus*), cornichão (*Lotus corniculatus*). Tukey ( $p < 0,05$ ).

Tabela 10. Correlações simples (r) entre propriedades bioquímicas do solo, estoques de carbono e nitrogênio, produtividade de grãos de arroz irrigado e aporte de resíduos vegetais pelas culturas de cobertura em experimento de longo prazo. Cachoeirinha, 2016.

	C_estoque	N_estoque	CO <sub>2</sub>	B_Glu	FDA	Urease	C_p aérea	C_raízes	Prod_fert
N_estoque	0,892*	-							
CO <sub>2</sub>	0,578*	0,423*	-						
B_Glu	0,630*	0,534*	0,667*	-					
FDA	-0,076	-0,092	-0,023	-0,097	-				
Urease	0,559*	0,602*	0,238*	0,090	-0,031	-			
C_p aérea	-0,093	-0,023	-0,267	-0,534	0,120	0,350	-		
C_raízes	0,728*	0,724*	0,271	0,575*	-0,055	0,135	-0,268	-	
Prod_fert	0,507*	0,501*	0,278	0,438*	-0,323	0,194	0,221	0,549*	-
Prod_s/fert	0,511*	0,665*	0,202	0,309	-0,095	0,061	-0,036	0,799*	0,596*

FDA: fluoresceína diacetato, C\_p aérea: matéria seca da parte aérea aportada pelas culturas (coberturas e arroz); C\_raízes: matéria seca das raízes aportada pelas culturas (coberturas e arroz); Urease: enzima; CO<sub>2</sub>: respiração basal do solo; B\_Glu: enzima β-Glucosidase; Prod\_s/fert: produtividade (média dos anos) de arroz médio sem fertilização; Prod\_fert: produtividade (média dos anos) de arroz médio com fertilização; C\_estoque: estoque de carbono no solo (camada de 0-20 cm) e N\_estoque: estoque de nitrogênio no solo (camada de 0-20 cm).

\*\* p<0.01.

Tabela 11. Coeficientes de correlação (r) entre atributos do solo, adição de carbono, produtividade de arroz irrigado e fatores de escala multidimensional não métrica. Cachoeirinha, 2016.

Variável <sup>1</sup>	Componente <sup>2</sup>	
	1	2
C_estoque	0,915**	0,112
N_estoque	0,903**	0,235
C_raízes	0,846**	-0,104
B_glu	0,745**	-0,505
Prod_s/fert	0,725**	0,089
Prod_fert	0,683**	0,247
CO <sub>2</sub>	0,603**	-0,295
FDA	-0,173	0,046
C_p aérea	-0,181	0,905**
Urease	0,426	0,628**

<sup>1</sup> Método de extração: análise de componentes principais.

<sup>2</sup> Componentes extraídos.

FDA: fluoresceína diacetato, C\_p aérea: matéria seca da parte aérea aportada pelas culturas (coberturas e arroz); C\_raízes: matéria seca das raízes aportada pelas culturas (coberturas e arroz); Urease: enzima; CO<sub>2</sub>: respiração basal do solo; B\_Glu: enzima β-Glucosidase; Prod\_s/fert: produtividade (média dos anos) de arroz médio sem fertilização; Prod\_fert: produtividade (média dos anos) de arroz médio com fertilização; C\_estoque: estoque de carbono no solo (camada de 0-20 cm) e N\_estoque: estoque de nitrogênio no solo (camada de 0-20 cm).

\*\* p<0.01.

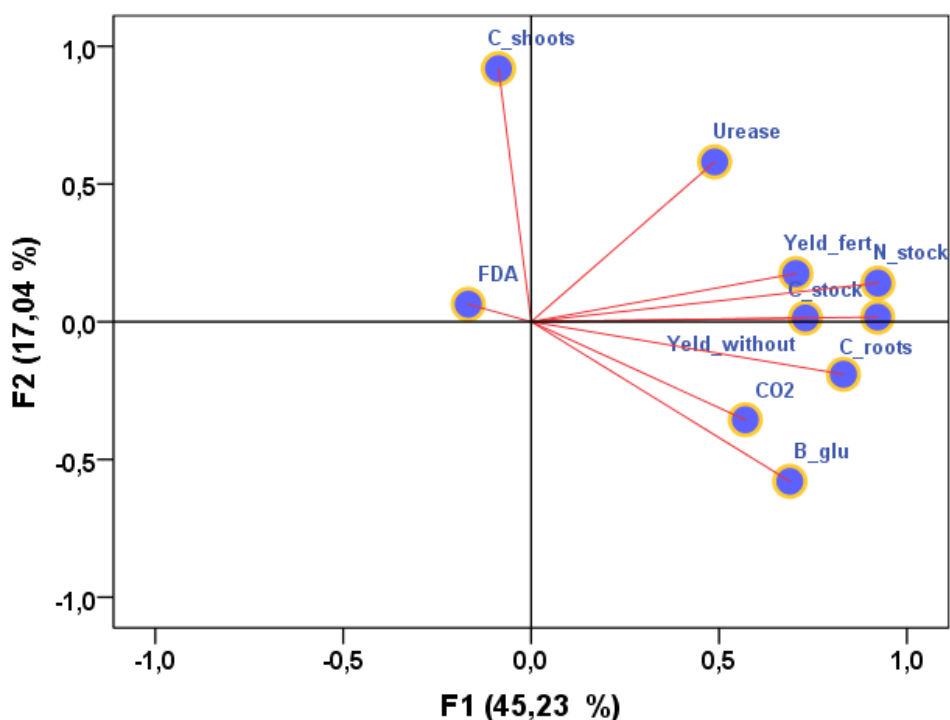


Figura 22. Análise de componentes principais. FDA: fluoresceína diacetato, C\_p aérea: matéria seca da parte aérea aportada pelas culturas (coberturas e arroz); C\_raízes: matéria seca das raízes aportada pelas culturas (coberturas e arroz); Urease: enzima; CO<sub>2</sub>: respiração basal do solo; B\_glu: enzima β-glucosidase; Prod\_s/fert: produtividade (média dos anos) de arroz sem fertilização; Prod\_fert: produtividade (média dos anos) de arroz com fertilização; C\_estoque: estoque de carbono no solo (camada de 0-20 cm); N\_estoque: estoque de nitrogênio no solo (camada de 0-20 cm). Cachoeirinha, 2016.

## 6.5 Discussão

### 6.5.1 Atividade enzimática

As culturas de cobertura modificam a dinâmica de energia e nutrientes, que são dois dos principais fatores relacionados à atividade microbiana do solo (Burns et al., 2013; Lange et al., 2015). As plantas de cobertura contribuem, principalmente, com o aporte de carbono lábil ao longo do ciclo pela senescência de folhas, pela rizodeposição, e pelos resíduos vegetais como caules, folhas e raízes ao final do ciclo (Mcdaniel e Grandy, 2016). O alto aporte de carbono e a ciclagem de nutrientes contribuíram para o aumento da

atividade das enzimas  $\beta$ -glucosidase e urease no presente estudo (Figura 18). A atividade da  $\beta$ -glucosidase está bastante relacionada à degradação de compostos ricos em carbono, principalmente glicose. Já a urease é uma enzima responsável pela mineralização de resíduos vegetais lábeis em amônio (Burns et al., 2013). Outros autores observaram a contribuição do uso de culturas de cobertura para a maior atividade do solo, principalmente de leguminosas, pelo seu papel em aportar, por simbiose, quantidades significativas de N ao solo. Por outro lado, não se verificou influência significativa ( $p>0,05$ ) da atividade da esterase (FDA) nas diferentes condições de culturas de coberturas (Figura 18).

### **6.5.2 Estoques de carbono e nitrogênio**

O aporte constante de resíduos vegetais pelas coberturas de inverno é um aspecto importante para o aumento dos estoques de carbono no solo (Figura 20). Além disso, a adoção da semeadura direta é fundamental para o aumento dos estoques de carbono no solo, pois evita o preparo do solo e minimiza o revolvimento, oxidação e perda do carbono (Figura 20).

O maior aporte de biomassa vegetal pelas plantas de cobertura (Tabela 9) também é fonte imediata de energia e nutrientes a microbiota do solo. Dessa forma, ocorre o aumento da biomassa microbiana e da atividade de enzimas extracelulares (Figura 18) que podem, conseqüentemente, contribuir para uma maior agregação do solo (Burns et al., 2013; Balota et al., 2014c; Mcdaniel e Grandy, 2016). A agregação contribui com a oclusão e retenção de formas orgânicas no solo (Abiven et al., 2009; Alvarez et al., 2017). Compostos orgânicos ficam muitas vezes protegidos da ação do complexo enzimático de microrganismos nessas estruturas do solo (Burns et al., 2013). Além disso, os óxidos de Fe e de Al são importantes mecanismos de proteção da matéria orgânica do solo; contudo no RS os solos cultivados com arroz irrigado são predominantemente pobres nesses minerais (Streck et al., 2008). Dessa forma, a agregação pode ser um dos principais mecanismos para proteger e aumentar os teores de carbono e nitrogênio no solo.

Na América do Sul, no período de outono-inverno, muitos solos arroseiros ficam em pousio, contribuindo para uma baixa adição de carbono ao



solo ( $2-3 \text{ Mg C ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$ ) (Alvarez et al., 2017). Os efeitos do menor aporte de carbono são representados, no atual estudo, pelos tratamentos em pousio no inverno que contribuem para os menores teores (Figura 19) e menores estoques de C e N (Figura 20) e, conseqüentemente, também a deterioração física (Abiven et al., 2009), química (Calegari et al., 2013) e microbiológica (Balota et al., 2014a). Na concepção de sistemas sustentáveis de produção, o balanço positivo de carbono dos sistemas agrícolas é fundamental (Assmann et al., 2014). Assim, o planejamento de cultivos que promove maior aporte de carbono ao solo (Tabela 9), é relevante para melhoria da qualidade da matéria orgânica e para incremento dos estoques de carbono do solo (Figura 20) (Alvarez et al., 2017).

O aporte de resíduos, associado ao uso de coberturas de outono-inverno, passam a ter importância sobre a redução de perdas de solo (Merten e Minella, 2013). Mesmo que se considere como baixos os níveis de perdas de solo em áreas cultivadas com arroz irrigado, alguns autores verificaram perda de solo superior a  $4 \text{ Mg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$  nesses solos (Chen et al., 2012). Essas perdas podem ser mais acentuadas em alguns solos cultivados com arroz irrigado no Sul do Brasil, onde cerca de 30 % do cultivo de arroz ocorre em áreas com maior declividade (5-12 %), como nas regiões orizícolas da Fronteira Oeste e Campanha (Streck et al., 2008).

### **6.5.3 Produtividade de grãos de arroz irrigado**

Um dos fatores que colaboram para o aumento da produtividade de arroz irrigado é a ciclagem de nutrientes, especialmente no período de outono-inverno, entres os ciclos de cultivo de arroz irrigado (Figura 19) (Liu et al., 2015a). Alguns autores têm relatado a importância das plantas de cobertura, sendo que espécies gramíneas podem reduzir, na média, 70 % e leguminosas 20 % as perdas de nitrogênio por lixiviação no solo (Dabney et al., 2010). No presente estudo, verificou-se o incremento do teor de N pelas culturas de cobertura comparado aos sistemas em pousio sob semeadura direta e preparo convencional (Figura 19). Além da maior ciclagem de nutrientes ocasionadas pelas plantas de cobertura, as leguminosas ainda possuem a peculiaridade de aumentar os teores desse nutriente no solo via fixação biológica de N quando

em simbiose, como pode ser observado pelo cornichão (Figura 19). Outros trabalhos também demonstram a capacidade das culturas de cobertura em aumentar a retenção de P no solo, disponibilizando-o para as culturas principais (Liu et al., 2013, 2015a). Nesse cenário, o incremento dos teores de carbono e nitrogênio ocasionado pelo uso de culturas de cobertura de outono-inverno e a adoção da semeadura direta (Figura 19), possivelmente, têm grande contribuição para o aumento das produtividades de arroz com a ausência de fertilização no período de primavera/verão (Figura 21). Por outro lado, quando o arroz irrigado foi fertilizado, não se observou diferença na produtividade dessa cultura. Esse cenário demonstra a alta dependência de insumos externos e dos altos níveis de fertilização da cultura do arroz irrigado no Sul do Brasil que, nesse experimento, recebeu cerca de 150, 108 e 68 kg ha<sup>-1</sup> de N, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> e K<sub>2</sub>O, respectivamente. Essa quantidade foi baseada nas recomendações técnicas de pesquisa para a obtenção de altas produtividades de grãos para o Sul do Brasil (SOSBAI, 2016).

Possivelmente, produtores que adotam o uso de culturas de cobertura no outono-inverno poderão reduzir os níveis aportados de fertilizantes ao solo, reduzindo os custos de produção, aumentando a eficiência do uso dos fertilizantes e tornar a produção de arroz mais sustentável. Em um trabalho realizado no Sul do Brasil, verificou-se que, quanto maior o tempo de uso de culturas de cobertura de outono-inverno pastejadas, menor era a resposta à adubação da cultura do arroz irrigado, sendo que as maiores produtividades foram obtidas quando as quantidades de fertilizante aplicadas na cultura foram menores do que as recomendações técnicas (Carmona et al., 2016). Além da redução de custos, o uso mais eficiente de fertilizantes, principalmente com aplicação de menores doses de nitrogênio, pode reduzir os potenciais impactos em mananciais hídricos e menor emissão de gases de efeito estufa como o N<sub>2</sub>O (Signor et al., 2013).

As culturas de cobertura leguminosas tem papel fundamental na fixação biológica de N no solo, principalmente pelo fato do arroz irrigado ser uma cultura que demanda grande quantidade de nitrogênio para o seu desenvolvimento. Alguns trabalhos observaram que o aporte de nitrogênio de culturas leguminosas de cobertura pode variar de 30 a 150 kg ha<sup>-1</sup> de N (Fageria

et al., 2005). Porém, em anos com maior precipitação no período de emergência, a maior biomassa de coberturas de outono inverno podem reduzir o estande inicial de plântulas de arroz e comprometer, conseqüentemente, a produtividade de grãos. No Sul do Brasil, tem-se verificado a necessidade média de 15 kg ha<sup>-1</sup> de N para cada tonelada de grãos produzida de arroz (SOSBAI, 2016). Trabalhos desenvolvidos no pampa argentino (em uma meta análise) demonstram que a produtividade de grãos de milho após o cultivo de *Vicia sp.* pode aumentar em 7 %, principalmente pelo aporte de cerca de 15 kg ha<sup>-1</sup> de N residuais dessa cultura, que contribui para seu estabelecimento inicial da cultura (Alvarez et al., 2017). Contudo, após o cultivo de milho em sucessão a culturas não gramíneas, verificou-se que pode ocorrer, em algumas situações, redução dos teores de nitrato no solo (Alvarez et al., 2017).

## 6.6 Conclusões

A adoção de culturas de cobertura no outono-inverno e da semeadura direta por longo prazo são estratégias eficientes para aumentar os estoques de carbono e nitrogênio e a atividade de enzimas extracelulares do solo cultivado com arroz irrigado.

O maior aporte de resíduos vegetais e a maior atividade da  $\beta$ -glucosidase e urease e os maiores estoques de carbono e nitrogênio do solo resultam em maiores produtividades de arroz irrigado quando cultivado sem fertilização em sucessão a culturas de cobertura.

Dessa forma, a adoção por longo prazo de coberturas de outono-inverno em terras baixas é uma alternativa que contribui para a melhoria da qualidade e aumento da produtividade de arroz irrigado.

## **7 CAPÍTULO 6 – ESTUDO 5: ROTAÇÃO DE ARROZ IRRIGADO E SOJA: NITROGÊNIO MINERAL, ATIVIDADE ENZIMÁTICA, COMUNIDADE MICROBIANA DO SOLO E DESENVOLVIMENTO DE AZEVÉM**

### **7.1 Resumo**

A rotação de culturas é umas das práticas de manejo que mais modificam as propriedades microbiológicas do solo com impactos subsequentes no desenvolvimento de plantas. Assim, esse trabalho teve o objetivo de avaliar a dinâmica do nitrogênio, atividade de enzimas extracelulares, o perfil da comunidade microbiana do solo e o posterior desenvolvimento de azevém em um Gleissolo Háptico cultivado com arroz irrigado e soja em área com longo histórico de cultivo de arroz irrigado. O experimento foi conduzido no ano agrícola 2015/16 na Estação Experimental do Arroz, Rio Grande do Sul, em uma área que vinha a 70 anos sendo cultivada com arroz irrigado. Os tratamentos utilizados são cultivo de arroz irrigado (T1) e soja (T2) em blocos casualizados com 4 repetições. Foram avaliadas a hidrólise de diacetato de fluoresceína (FDA), fosfatase ácida, urease e  $\beta$ -glucosidase. Para quantificar a diversidade microbiana, o DNA microbiano total foi extraído de amostras de solo, amplificado pela reação em cadeia da polimerase (PCR), e sequenciado usando a região V4 do gene 16S rRNA. A produção de biomassa vegetal de azevém foi quantificada após os cultivos de arroz irrigado e soja. Observou-se maior disponibilidade de N mineral e maior atividade de enzimas extracelulares e da diversidade taxonômica de bactérias após o cultivo de soja comparado ao arroz irrigado. Essas mudanças, após o cultivo de soja, impactaram diretamente no desenvolvimento de plantas de azevém, que apresentaram uma produção de biomassa vegetal, cerca de três vezes superior a área anteriormente cultivada com arroz irrigado. Dessa forma, a rotação de soja em áreas com longo histórico

de monocultivo de arroz irrigado é uma alternativa importante para o aumento de da disponibilidade de N, aumento da atividade de enzimas extracelulares com reflexos no desenvolvimento de plantas de azevém.

**Palavras chave:** *Oriyza sativa*, *Glycine max*, nutrientes, atividade bioquímica do solo, diversidade microbiana.

## 7.2 Introdução

Nas últimas décadas, diante do crescimento exponencial da população mundial, a agricultura moderna convergiu para monocultivos altamente especializados, com intensa adoção de insumos e tecnologias que foram importantes, sob a ótica de segurança alimentar, para o aumento da produtividade e produção de alimentos (Sadik, 2012). Contudo, a perda da biodiversidade causada pela agricultura moderna é uma das grandes preocupações mundiais (Figuerola et al., 2015). Diversos trabalhos tem verificado o declínio de espécies sob monocultivos de culturas agrícolas, tais como aves (Bockus e Shroyer, 1998), insetos (Tschamntke et al., 2008), invertebrados (Beketov et al., 2013) e macrofauna do solo (Domínguez et al., 2010). Na atividade orizícola esse cenário não é diferente, sendo o monocultivo de arroz irrigado uma prática comum na maior parte dos países asiáticos, que concentram 90% da produção mundial desse cereal (IRRI, 2016), e no Brasil, que é principal produtor de arroz da América Latina (SOSBAI, 2016). Sob o cultivo contínuo de arroz irrigado, no espaço e no tempo, tem-se observado o aumento dos casos de plantas daninhas resistentes à herbicidas (Galon et al., 2008), maior infestação de doenças e redução da qualidade do solo em áreas cultivadas com arroz irrigado no Sul do Brasil (Mundstock et al., 2017).

A diversificação de cultivos é uma prática conservacionista que contribui para incrementar a diversidade de agroecossistemas (Mcdaniel e Grandy, 2016). Tem-se verificado, em alguns trabalhos, que a rotação de culturas pode ocasionar o aumento dos estoques de carbono (Mcdaniel e Grandy, 2016), maior disponibilidade de nitrogênio, aumento da biomassa microbiana, maior atividade de enzimas extracelulares (Balota et al., 2011,

2014a) e aumento da diversidade microbiana do solo (Quadros et al., 2012; Souza et al., 2015).

A soja (*Glycine max*) é a principal leguminosa cultivada no mundo (USDA, 2017) pelo fato de ser uma planta de alto valor proteico o que à confere uma alta valorização econômica (Singh et al., 2008). No Brasil, a área semeada com essa oleaginosa está crescendo acentuadamente e o seu cultivo em rotação com o arroz irrigado no Sul do país se intensificou significativamente nos últimos 7 anos, possibilitando inúmeros benefícios agronômicos (Andres et al., 2001). A soja possui capacidade de fixar simbioticamente nitrogênio, que é um elemento essencial para nutrição do arroz (Carlos et al., 2016) e para o metabolismo microbiano (Taylor et al., 2002; Allison e Vitousek, 2005). Por outro lado, o arroz é uma espécie que possui uma composição bioquímica bastante distinta da soja, como alta relação C:N, alto teor de silício e lignina (Zhu et al., 2014). Assim, em geral, os resíduos vegetais de gramíneas são mineralizados mais lentamente no solo comparado aos resíduos de leguminosas, além de ocasionar um período maior de imobilização de N e afetar os fluxos de liberação desse nutriente no solo (Mcdaniel e Grandy, 2016). Soma-se a isso a condição de cultivo do arroz irrigado sob alagamento que cria condições de hipóxia no solo, característica que predomina em cerca de 75% da área cultivada no mundo com esse cereal (IRRI, 2016). A lâmina d'água reduz a difusão de oxigênio para o solo cerca de 10.000 vezes comparativamente à atmosfera (Ponnamperuma, 1972), diminui o potencial redox do solo (Carlos et al., 2015) e, conseqüentemente, diminui a atividade bioquímica da microbiota aeróbia do solo (Wang e Lu, 2006; Pandey et al., 2014).

As mudanças de uso e manejo do solo estão entre os fatores que mais afetam a estrutura e função da comunidade microbiana do solo (Suleiman et al., 2017) que é um elemento chave nos fluxos de nutrientes e energia (Bellinger et al., 2012). Trabalhos prévios estudaram os efeitos da diversidade de plantas sobre a comunidade microbiana do solo (Li et al., 2016; Mcdaniel e Grandy, 2016) e no desenvolvimento de plantas (Chapman e Newman, 2010). Porém, a dinâmica de liberação de nitrogênio de resíduos vegetais e seu impacto na dinâmica de liberação de N, atividade e estrutura microbiana do solo ainda são pouco detalhados e conhecidos (Chen et al., 2015)

Nos hipotetizamos que o cultivo de soja em solos arroseiros aumenta o aporte de resíduos vegetais de maior labilidade, possibilita a maior disponibilidade de N, aumenta atividade e diversidade da comunidade microbiana do solo e beneficia o desenvolvimento de plantas de azevém cultivadas em sucessão. Nesse cenário, esse trabalho tem o objetivo de responder uma pergunta: quais são os impactos do cultivo de arroz irrigado e soja sobre os teores de N mineral no solo, atividade de enzimas extracelulares, comunidade microbiana do solo e o desenvolvimento de azevém estabelecido em sucessão em uma área cultivada com arroz irrigado por longo prazo?

### **7.3 Material e métodos**

#### **7.3.1 Experimento**

O experimento foi conduzido na Estação Experimental do Arroz do Instituto Rio Grandense do Arroz, Cachoeirinha, Rio Grande do Sul, Sul do Brasil (29°57' S, 51°05' L e 23 m de altitude). O solo é classificado com Gleissolo Háplico (Streck et al., 2008). Possui 200 g kg<sup>-1</sup> de argila; pH 5,3; 12 mg dm<sup>-3</sup> de P; 41,8 mg dm<sup>-3</sup> de K; 3,1 e 1,2 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> de Ca e Mg, respectivamente. Essa área anteriormente a implantação do experimento estava sob cultivo de arroz irrigado há 70 anos. O delineamento experimental é de blocos casualizados com quatro repetições. As unidades experimentais são parcelas de 10 x 10 m, totalizando uma área útil de 100m<sup>2</sup>. Os tratamentos implantados nesse experimento foram o cultivo de arroz irrigado e de soja no ano agrícola 2015/16. Ambas as culturas foram conduzidas sob semeadura direta, que consiste no mínimo distúrbio ao solo, somente feito pelo sulco do disco da semeadora para deposição da semente e fertilizante. Na área cultivada com arroz irrigado foi semeado a cultivar IRGA 424 RI com densidade de semente de 100 kg ha<sup>-1</sup> recebendo uma adubação de 150, 68 e 108 kg ha<sup>-1</sup> de N, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> e K<sub>2</sub>O, respectivamente. Já a soja foi utilizada a cultivar ponta semeada na densidade de 14 plantas por metro linear e recebeu uma fertilização de 130 e 120 kg ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O e P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, respectivamente. As sementes de soja foram inculadas com um mix (1:1) de inoculante líquido e turfoso, 4 doses/ha.

### **7.3.2 Atividade enzimática e N mineral**

As coletas de solo para avaliação da atividade de enzimas extracelulares e N mineral do solo foram feitas após o colheita de soja e arroz a cada 15 dias para as 5 primeiras coletas e espaçadas a cada 20 dias para as demais. No total foram realizadas 9 coletas que totalizaram um período de avaliação de 155 dias após a colheita. Foram coletadas 6 sub amostras de solo em cada unidade experimental na camada de 0-5 cm e posteriormente homogeneizadas. Estas eram então encaminhadas ao laboratório onde eram tamisadas (2mm), extração com utilização de KCl 1 mol L<sup>-1</sup> e posteriormente os teores de amônio e nitrato foram determinados pelo método de micro destilação *Kjeldahl* (Tedesco et al., 1995) e para determinação de enzimas extracelulares quando não determinadas no dia, eram armazenadas a 4°C por até 7 dias até o momento da determinação (Tabatabai, 1982). Para avaliação da atividade enzimática utilizaram-se as metodologias descritas nos itens 3.3.7, 3.3.8, 3.3.9 e 3.3.10.

### **7.3.3 Desenvolvimento de azevém (*Lolium multiflorum*)**

Em cinco datas ao longo do período de outono-inverno de 2016 também foram coletadas amostras de azevém em 2 pontos de 0,25 m<sup>2</sup> por unidade experimental para quantificar a produção de matéria seca. Posteriormente essas amostras eram secas em estufa a 65°C e posteriormente pesadas.

### **7.3.4 Microbioma**

A metodologia utilizada foi a mesma descrita no item 3.3.13.

### **7.3.5 Processamento de sequências e análises estatísticas**

Para o processemaneto das sequências utilizou-se a metodologia descrita no item 3.3.14.



O N mineral, os atributos microbiológicos do solo e a matéria seca do azevém foram submetidos a análise de variância (ANOVA) de acordo com o delineamento experimental. A análise estatística foi aplicada a cada um dos parâmetros estudados. Quando o ANOVA mostrou-se significativa pelo teste F ( $p < 0,05$ ), os parâmetros foram submetidos à comparação de médias pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

## **7.4 Resultados**

### **7.4.1 Nitrogênio mineral no solo**

O cultivo de soja, em uma área com longo período de cultivo de arroz irrigado, teve impacto significativo ( $p < 0,05$ ) sobre a disponibilidade de N mineral no solo comparado ao tratamento cultivado com arroz irrigado (Figura 23). Verificou-se que, das 9 avaliações realizadas, em 44% (4 avaliações) os teores de amônio após o cultivo de soja foram superiores a área cultivada com arroz (Figura 23A). Com relação aos teores de nitrato, essa tendência é ainda maior, em 67% (6 avaliações) os teores foram superiores quando o cultivo anterior foi a leguminosa (Figura 23B). Os teores de amônio foram constantes ao longo do período das avaliações realizadas. Por outro lado, observa-se que os teores de nitrato apresentaram, independente do cultivo anterior, tendência de aumento com o decorrer do tempo de avaliação. Observou-se também que a maior parte do nitrogênio mineral no solo foi encontrado na forma amoniacal, onde os teores encontrados foram na faixa de 30 a 50 mg dm<sup>-3</sup>, enquanto que o nitrato, a maior parte dos teores verificados, foi entre 10 e 20 mg dm<sup>-3</sup>, independente do cultivo anterior (Figura 23).

### **7.4.2 Atividade enzimática**

Todas as enzimas extracelulares, em maior ou menor intensidade, tiveram efeito significativo ( $p < 0,05$ ) da inclusão do cultivo de soja (Figura 24). A atividade da  $\beta$ -glucosidase foi superior após o cultivo de soja na maioria das avaliações (Figura 24A). Apenas uma avaliação após a cultura do arroz irrigado foi superior a 100  $\mu\text{g}$  de PNP g<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>, as demais avaliações se mantiveram na

faixa entre 50-100  $\mu\text{g}$  de PNP  $\text{g}^{-1} \text{h}^{-1}$ . Após o cultivo da leguminosa a maior parte da atividade da  $\beta$ -glucosidase enzima foi acima de 100  $\mu\text{g}$  de PNP  $\text{g}^{-1} \text{h}^{-1}$ . A atividade da  $\beta$ -glucosidase nas últimas avaliações após o cultivo da soja apresentou tendência de aumento.

A urease, por sua vez, foi a enzima que teve menor influência da rotação com a soja (Figura 24B). Observaram-se diferenças significativas principalmente nos primeiros 45 dias de avaliação onde coincidiu com os maiores valores de atividade da urease. Nos primeiros 30 dias de avaliação, a urease teve maior atividade após o cultivo da soja e na terceira avaliação após o cultivo de arroz irrigado. Posteriormente, independente do cultivo, observaram-se valores que oscilaram entre 15 e 30  $\text{mg NH}_4^+ \text{g}^{-1} 2\text{h}^{-1}$ .

A atividade da fosfatase ácida, similar a  $\beta$ -glucosidase, teve influência significativa do cultivo de soja, sendo superior, na grande maioria das avaliações, ao tratamento onde foi cultivado arroz irrigado (Figura 24C). Após o cultivo de soja, observou-se maior atividade no período inicial de 75 dias, na faixa de 70 a 130  $\mu\text{g}$  de PNP  $\text{g}^{-1} \text{h}^{-1}$ , enquanto que após o cultivo de arroz irrigado se manteve na faixa de 30 a 60  $\mu\text{g}$  de PNP  $\text{g}^{-1} \text{h}^{-1}$ . Por fim, a atividade de esterases (fluoresceína diacetato) foi superior em 44% das avaliações após o cultivo de soja em relação ao tratamento cultivado com arroz irrigado (Figura 24D). Observou-se tendência de aumento da atividade da esterase (FDA) até os 80 dias após a colheita das culturas de verão com posterior declínio, independente do cultivo anterior.

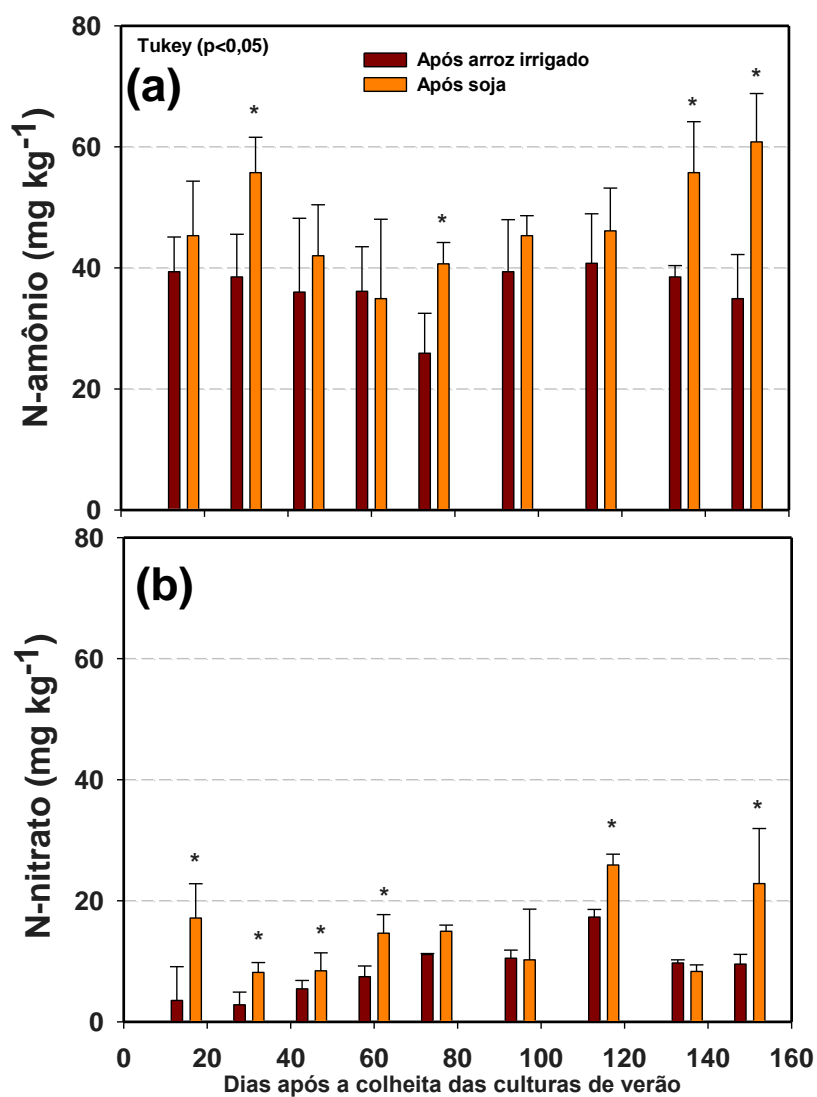


Figura 23. Teores de amônio (a) e nitrato (b) no solo após o cultivo de arroz irrigado e soja em um Gleissolo Háplico. Barras verticais indicam o desvio padrão. \*Tukey ( $p < 0,05$ ).

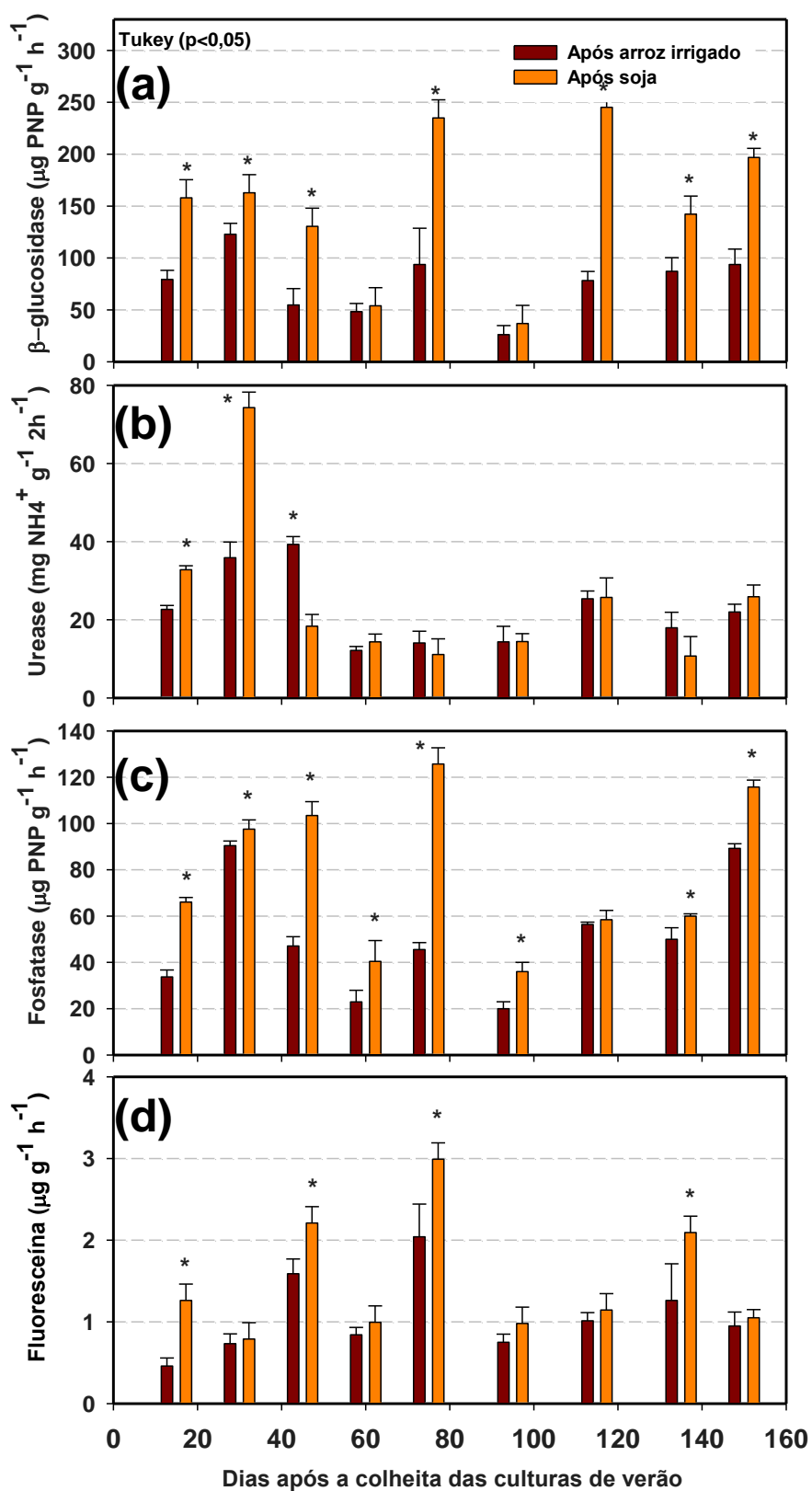


Figura 24. Atividade de  $\beta$ -glucosidase (a), urease (b), fosfatase ácida (c) e esterase (fluoresceína) (d) após o cultivo de arroz irrigado e soja em um Gleissolo Háplico. Barras verticais indicam o desvio padrão. \*Tukey ( $p < 0,05$ ).

### 7.4.3 Diversidade microbiana

A diversidade microbiana do solo foi avaliada pelo sequenciamento de nova geração através do gene 16S rRNA. Após a filtragem de qualidade, um total de 215.054 sequências foram obtidas com um comprimento mínimo de 200 pb, erro máximo esperado de 0,5. Os cálculos de *Good's cover* indicaram que foi capturado de 88 à 99% das *operational taxonomic units* (OTUs) nas amostras de solo. Na avaliação da comunidade microbiana do solo verificaram-se diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) do cultivo de soja e arroz irrigado em relação às condições iniciais do experimento (Figuras 25, 26, 27 e 28).

Sob o cultivo de soja houve um aumento da proporção das bactérias da família *Chitinophagaceae*, *Opitutaceae*, *Myxococcales*, *Sinobacteraceae*, *Betaproteobacteria* e *Pnhenylobacterium*. Por outro lado, o cultivo de soja reduziu o percentual de *Acidobacteria*, *WPS*, *Gaiellaceae*, *Acidimicrobiales*, *Burkholderia*, *Actinomycetales*, *Xanthomonadaceae*, *Sphingobacteriaceae*, *Frankiaceae* e *Solibacteriaceae*, *Haliangiaceae*, *Methylocystaceae* em relação à condição original do solo (Figura 25).

Em relação à condição original, o cultivo de arroz irrigado aumentou a proporção no solo de bactérias da família *Geobacteriaceae*, *Opitutaceae* e *Betaproteobacteria* (Figura 26). Porém, o cultivo de arroz irrigado reduziu a proporção no solo de bactérias *WPS*, *Gaiellaceae*, *Acidobacteriaceae*, *Thermogemmatissporaceae*, *Flavisolibacter*, *Acetobacteraceae* e *Sphingobacteriaceae*. Em suma, o cultivo de arroz irrigado aumentou a proporção de três famílias e reduziu, significativamente, a proporção de 8 famílias bacterianas no solo (Figura 26).



Figura 25. Comunidade microbiana de um Glessolo Háplico antes e após o cultivo de soja em área com longo histórico de cultivo de arroz irrigado. Barras horizontais indicam o desvio padrão.  $P < 0,05$ .

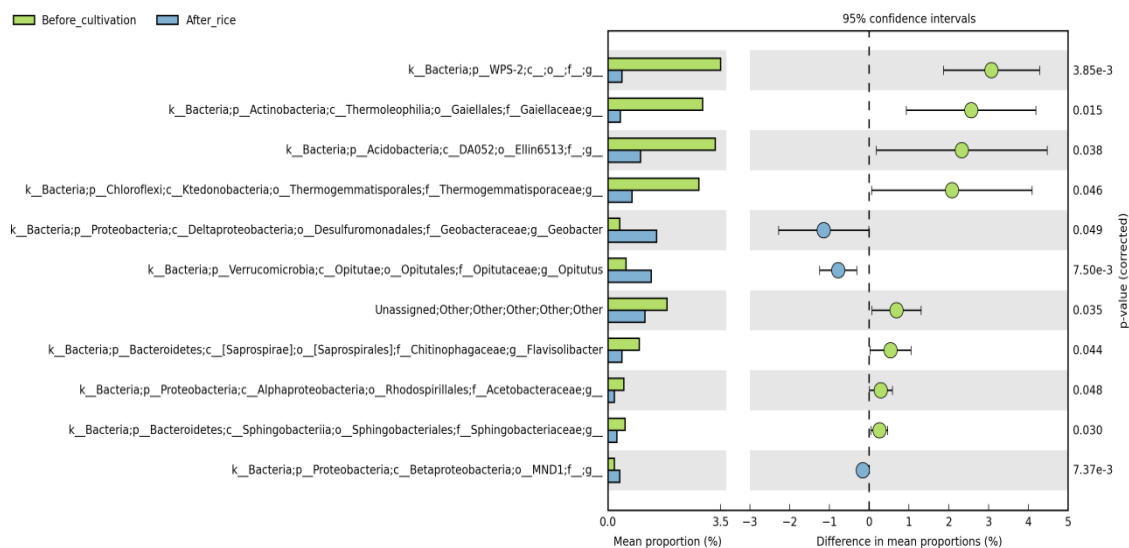


Figura 26. Comunidade microbiana de um Glessolo Háplico antes e após o cultivo de arroz irrigado em área com longo histórico de cultivo de arroz irrigado. Barras horizontais indicam o desvio padrão.  $P < 0,05$ .

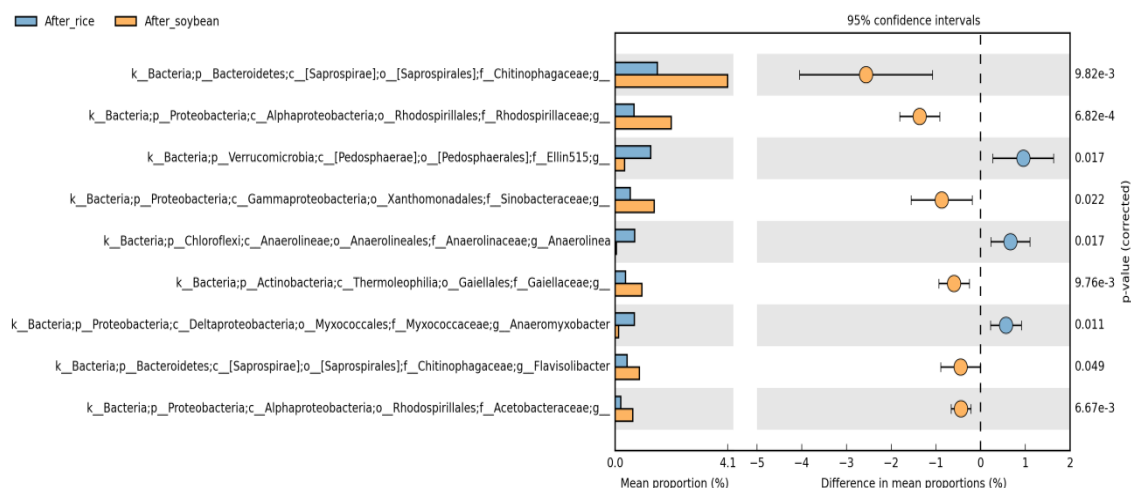


Figura 27. Comunidade microbiana de um Glessolo Háplico após o cultivo de arroz irrigado e soja em área com longo histórico de cultivo de arroz irrigado. Barras horizontais indicam o desvio padrão.  $P < 0,05$ .

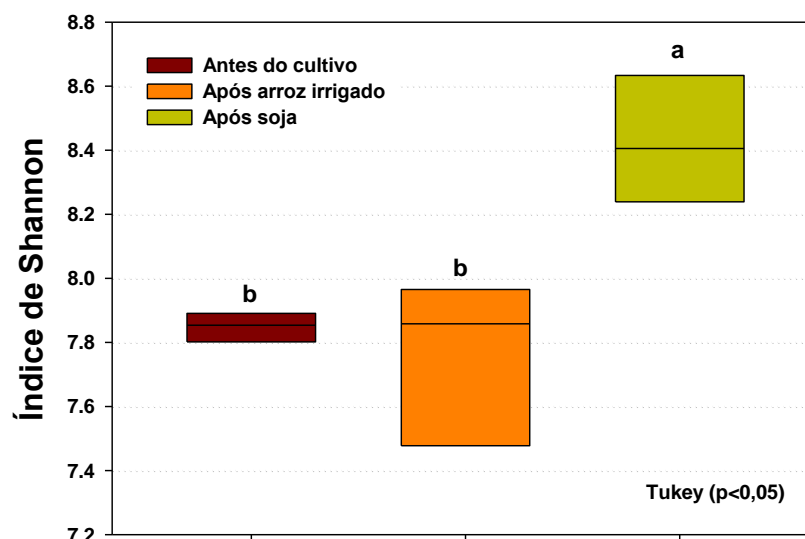


Figura 28. Índice de diversidade de Shannon da comunidade microbiana de um Gleissolo Háplicopreviamente e após o cultivo de arroz irrigado e soja em área com longo histórico de cultivo de arroz irrigado. Tukey( $P < 0,05$ ).

Comparando ambos os cultivos, o arroz irrigado aumentou a proporção das bactérias *Pedosphaerales*, *Anaerolinaceae* e *Anaeromyxobacter* (Figura 27). Já a soja aumentou a proporção no solo de bactérias *Chitinophagaceae*, *Rhodospirillaceae*, *Sinobacteriaceae*, *Gaiellaceae*, *Flavisolibacter* e *Acetobacteraceae*. As mudanças da comunidade microbiana do solo se refletiram na alpha diversidade do solo, onde após cultivo de soja se

observou maior diversidade comparativamente ao solo previamente aos cultivos de verão e sob cultivo de arroz irrigado (Figura 28).

A diversidade da comunidade bacteriana do solo mensurada pelo índice de shannon se correlacionou positivamente com a atividade da esterase (FDA), fosfatase e  $\beta$ -glucosidase ( $R^2= 0,75$ ;  $0,92$  e  $0,92$ , respectivamente) (Tabela 12). Além disso, a diversidade microbiana também apresentou correlação positiva com a produção de biomassa vegetal de azevém ( $R^2= 0,82$ ,  $p < 0,05$ ). Das formas de N mineral no solo, o nitrato foi o que mais demonstrou associação às outras variáveis em estudo, apresentando correlação positiva com a atividade da esterase (FDA), fosfatase,  $\beta$ -glucosidase e biomassa vegetal de azevém ( $R^2= 0,94$ ;  $0,77$ ;  $0,83$  e  $0,92$ ; respectivamente). Enquanto que o amônio apresentou correlação positiva somente com a atividade da urease ( $R^2= 0,81$ ,  $p < 0,05$ ) (Tabela 12).

Tabela 12. Correlação simples (r) entre os atributos microbiológicos de um Gleissolo Háplico sob rotação de arroz irrigado e soja.

	Shannon	Amônio	Nitrato	FDA	Fosfatase	Urease	$\beta$ _glucosidase
Amônio	0,30						
Nitrato	0,68	0,45					
FDA	0,75*	0,54	0,94**				
Fosfatase	0,92**	0,29	0,77*	0,83*			
Urease	0,36	0,81*	0,64	0,73*	0,44		
$\beta$ _glucosidase	0,92**	0,46	0,83*	0,94**	0,93**	0,63	
Matéria seca	0,82*	0,54	0,92**	0,99**	0,90**	0,71*	0,97**

\*\* Significativo a nível de 1% (bilateral).

\* Significativo a nível de 5% (bilateral).

#### 7.4.4 Desenvolvimento de azevém

Por fim, avaliou-se o desenvolvimento de azevém cultivado em sucessão as culturas de verão (Figura 29). Nos primeiros 80 dias de avaliação, independente do cultivo anterior, observou-se baixa quantidade de biomassa vegetal de azevém. Contudo, posteriormente, após o cultivo de soja, o azevém apresentou um crescimento significativo chegando a patamares próximos a  $4,3 \text{ t ha}^{-1}$ , sem adubação nitrogenada. Por outro lado, após o cultivo de arroz irrigado, a produção ao final do ciclo não superou  $1,5 \text{ t ha}^{-1}$ . Desde a primeira coleta, a produção de biomassa vegetal de azevém após o cultivo de soja foi superior ( $p < 0,05$ ) em comparação ao cultivo arroz irrigado. Ao final do ciclo, a quantidade



de matéria seca de azevém pós soja foi de cerca de 187% superior após a cultura do arroz irrigado.

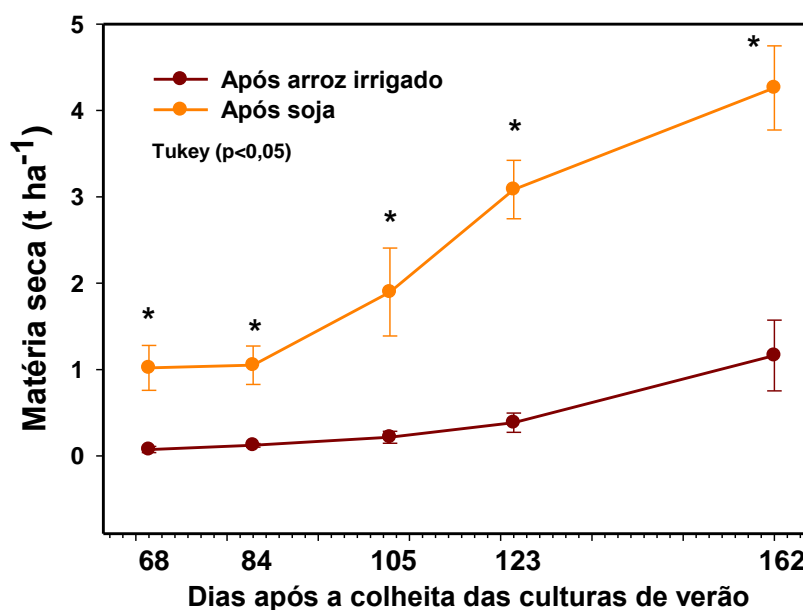


Figura 29. Produção de matéria seca de azevém em um Gleissolo Háplico após o cultivo de arroz irrigado e soja em área com longo histórico de cultivo de arroz irrigado. Barras verticais indicam desvio padrão. \*Tukey ( $p < 0,05$ ).

## 7.5 Discussão

### 7.5.1 Resíduos vegetais

As mudanças de uso e manejo do solo são elementos que governam os fluxos de nutrientes (Mcdaniel e Grandy, 2016), atividade de enzimas (Balota et al., 2014a) e a comunidade microbiana do solo (Jiang et al., 2016). A rotação do soja em áreas tradicionalmente cultivadas com arroz irrigado teve impactos diretos no aumento da disponibilidade de N mineral no solo (Figura 23), com aumentos na atividade de enzimas extracelulares (Figura 24), aumento da diversidade microbiana do solo (Figura 28) e consequentemente com impactos sobre o desenvolvimento da biomassa vegetal de plantas de azevém (Figura 29).

Os resíduos vegetais de culturas agrícolas possuem grande influência sobre a dinâmica da microbiota, pois são a principal fonte de energia e nutrientes para bactérias e fungos (Burns et al., 2013). As plantas de arroz e soja

correspondem as famílias *Poaceae* e *Fabaceae*, respectivamente, que possuem composição bioquímica completamente distinta (McDaniel e Grandy, 2016). A soja é uma leguminosa que possui constituição vegetal com baixa relação C:N e hábil capacidade de fixação simbiótica de nitrogênio (Thilakarathna et al., 2016). A maior labilidade dos resíduos vegetais impactam na maior atividade de enzimas extracelulares (Figura 24) e conseqüentemente intensificam a mineralização dos resíduos vegetais com a liberação mais rápida de nutrientes como o nitrogênio (Figura 23) que retroalimenta a atividade microbiana (Burns et al., 2013). Por outro lado, os resíduos vegetais de arroz após a colheita (resteva) possuem alta relação C:N (85:1) (Zhang et al., 2015), alto teor de lignina e silício que reduz a velocidade de mineralização e a atividade de enzimas extracelulares que atuam em maior intensidade sobre compostos lábeis de fácil decomposição (Figura 24) (Burns et al., 2013) e a disponibilidade de N no solo (Figura 23). Devido a essas características, em geral, os resíduos de leguminosas são classificados como de alta qualidade e os de gramíneas como de baixa qualidade (McDaniel et al., 2014).

Um primeiro mecanismo de contribuição das leguminosas para a transferência de compostos orgânicos lábeis e N para o solo é por meio da mineralização dos tecidos da parte aérea, raízes em decomposição e nódulos em senescência (Louarn et al., 2015). O segundo mecanismo que envolve a liberação de compostos orgânicos lábeis e nitrogenados pelos exsudatos radiculares (Louarn et al., 2015).

As leguminosas possuem maior capacidade em aportar ao solo; via resíduos senescentes e exsudatos rizosféricos; substâncias como aminoácidos, ácidos orgânicos, açúcares e flavonóides do que as gramíneas (Isobe e Tsuboki, 1998; Isobe et al., 2001; Zhou et al., 2017). A maior presença de compostos de baixo peso molecular nos exsudatos rizosféricos é um fator que causa das mudanças na comunidade microbiana do solo (Figuras 25, 26, 27 e 28) (Szoboszlay et al., 2016). Alguns trabalhos verificaram 15% de maior exsudação de ácidos orgânicos por tremoço em comparação ao trigo (Weisskopf et al., 2008). Outros autores verificaram diferença no perfil de flavonóides nos exsudatos de leguminosas, enquanto que não se observou diferença no perfil do exsudato entre gramíneas (Gomaa et al., 2015). Flavonóides como 7,4 '-

dihidroxi-flavona e naringenina regulam diferentemente a comunidade microbiana do solo (Szoboszlay et al., 2016). Pelo fato das leguminosas liberarem maior proporção de compostos orgânicos de baixo peso molecular em relação a gramíneas, possivelmente seja esse um dos mecanismos que afetam diferentemente a liberação de N de mineral (Figura 23), aumento da atividade enzimática (Figura 24) e mudança na comunidade microbiana do solo (Figuras 25, 26, 27 e 28).

### **7.5.2 Atividade enzimática**

A atividade de enzimas extracelulares possui grande influência dos resíduos orgânicos provenientes das plantas cultivadas (Balota et al., 2014c). O aumento da atividade das enzimas após o cultivo de soja (Figura 24), possivelmente está relacionado à maior labilidade dos resíduos de leguminosas (Balota et al., 2004; Mcdaniel e Grandy, 2016). Conseqüentemente, a maior síntese e excreção de enzimas extracelulares tem sido relacionada com a maior a maior disponibilidade de nutrientes (Pandey et al., 2014), maior desenvolvimento da biomassa microbiana e conseqüentemente contribuição para a agregação do solo (Mcdaniel e Grandy, 2016). Alguns autores tem verificado que formas lábeis de carbono são importantes no aumento da atividade enzimática do solo, pois na maioria das situações a microbiota do solo é limitada por C (Demoling et al., 2007). Assim, o monocultivo de gramíneas como o arroz, reduz a disponibilidade de substratos lábeis comparado à leguminosas e diminui o metabolismo microbiano (Mcdaniel e Grandy, 2016).

Das nove avaliações ao longo de quase 160 dias após os cultivos de arroz irrigado e soja observou-se uma atividade da  $\beta$ -glucosidase superior em 77,8% das avaliações (Figura 24). Essa enzima tem forte relação com a degradação de celulose que é a principal molécula orgânica presente nos resíduos vegetais (Burns et al., 2013; Balota et al., 2014a). A urease, relacionada às transformações de compostos nitrogenados em amônio, teve uma correlação significativa com os teores de N-amônio no solo (Tabela 12). A fosfatase que relaciona-se a desforforilação do fósforo orgânico em formas minerais de P prontamente disponíveis às plantas (Balota et al., 2014c), foi maior após o cultivo

de soja, evidenciando à relação importante da maior disponibilidade de N para o aumento da fosfatase (Tabela 12). Por fim, a FDA que está associada à atividade de esterases (Burns et al., 2013), possivelmente teve influencia dos resíduos de soja constituídos por moléculas orgânicas de baixo peso molecular liberados que liberam maior quantidade de  $\text{N-NO}_3^-$  ao solo (Figura 23).

Ao longo do ciclo de avaliação das enzimas observou-se uma maior atividade das quatro enzimas avaliadas até cerca de 80 dias após término do ciclo das culturas de verão (Figura 24). Nesses primeiros dias, os compostos de maior labilidade são mineralizados pela ação da  $\beta$ -glucosidase, fosfatase ácida, urease e esterase (FDA). Outros autores verificaram que nesse período há maior atividade de enzimas que degradam resíduos de alta qualidade e baixa atividade das enzimas polifenol oxidase e peroxidase que atuam na degradação de resíduos recalcitrantes (McDaniel et al., 2014). Posteriormente, de 100 a 160 dias após a colheita das culturas de verão observa-se uma tendência de aumento da atividade enzimática do solo a exceção da urease. Esse fato, pode ser atribuído ao aumento do desenvolvimento de plantas de azevém nesse período (Figura 29), que com maior porte, contribuem com maior aporte de exsudatos radiculares e folhas senescentes o que aumenta a atividade de enzimas extracelulares (Figura 24).

### **7.5.3 Desenvolvimento de biomassa de azevém**

A maior disponibilidade de N, maior atividade enzimática e da diversidade microbiana impactaram em condições mais favoráveis ao desenvolvimento de plantas de azevém (Figura 29) que também foi observado por outros autores (Spehn et al., 2002). Durante o ciclo de desenvolvimento do azevém, a mineralização mais rápida dos resíduos vegetais da soja, contribuiu com a maior liberação de nitrogênio que beneficiou o desenvolvimento do azevém (Figura 29). Esse impacto significativo de maior quantidade de biomassa vegetal é relevante sob a ótica do aumento de aporte de carbono ao solo (Assmann et al., 2014), maior área superficial de proteção do solo, ciclagem de nutrientes mais intensa além de possibilitar a exploração dessa maior massa de forragem pela atividade pecuária em sistemas integrados de produção

(Anghinoni et al., 2013). O aumento da produção de azevém também pode refletir no aumento de entradas de resíduos no solo e promover maior aporte de substrato aos microrganismos, resultando em maior atividade e maior abundância da comunidade microbiana do solo (Lange et al., 2015).

#### 7.5.4 Diversidade microbiana

As mudanças decorrentes dos cultivos de arroz irrigado e soja impactaram significativamente na diversidade da comunidade microbiana do solo (Figuras 25, 26, 27 e 28). As espécies de plantas cultivadas são um dos principais fatores a influenciar o perfil da comunidade microbiana do solo (Figura 28) (Li et al., 2016). Observou-se que um número maior de categorias taxonômicas foram favorecidas após o cultivo de soja em relação ao de arroz irrigado, refletindo-se em maior diversidade microbiana no solo (Figura 28). Muitos trabalhos tem explorado as relações entre a comunidade microbiana e as condições ambientais (ex: pH, nutrientes e carbono) (Lozupone e Knight, 2007; Liu et al., 2015b), atestando a hipótese que os microrganismos são selecionados primeiramente por condições ambientais (Hanson et al., 2012).

Observa-se que o cultivo de soja em relação a condição inicial do solo aumentou a proporção de bactérias do filo *Saprospirae*. Nesse filo estão contidos importantes bactérias aeróbias como *Cytophagas* que possuem importante papel na mineralização de compostos ricos em celulose que é o principal composto orgânico presente nos resíduos vegetais (Burns et al., 2013). Assim, o cultivo de soja favorece a ocorrência de *Chitinophagaceae* (Figura 25) no solo que são hábeis no aumento da atividade da  $\beta$ -glucosidase (Figura 24) (Bailey et al., 2013), enzima que possui grande importância na mineralização de celulose (Burns et al., 2013). Nesse filo também encontram-se bactérias do gênero *Thioploca* que são microrganismos que participam ativamente do ciclo biogeoquímico do nitrogênio e enxofre (Ahmad et al., 1999). Esses autores verificaram que o vacúolo dessas bactérias pode ocupar até 80 % do volume da célula e armazenar concentrações de até 500 nM de nitrato (Ahmad et al., 1999) que pode estar relacionado a maior disponibilidade de N no solo após o cultivo da soja (Figura 23). Após o cultivo de soja também se observou o aumento da

proporção de bactérias do filo *Verrucomicrobia* no solo, principalmente da maior ocorrência de bactérias do gênero *Opitutus* que são encontradas em solos cultivados com arroz (Chin et al., 2001). A presença da leguminosa e a deposição de resíduos vegetais com maior proporção de compostos orgânicos nitrogenados orgânicos pode favorecer o maior estabelecimento de microrganismos do filo *Verrucomicrobia* pelo fato de possuir capacidade de catalise de proteínas (Wertz et al., 2012) e que contribui também para o aumento do N no solo (Figura 23). O cultivo de soja também incrementou a proporção de bactérias do gênero *Myxococales* na qual estão presentes as bactérias *myxobacterias* que possuem grande habilidade de contato por quimiotaxia e contribui para a formação de agregados mais estáveis no solo (Kiskowski et al., 2004). Outra alteração no perfil bacteriano do solo após o cultivo de soja foi o aumento de bactérias do gênero *Phenyllobacterium*. Algumas bactérias desse gênero foram identificadas como capazes de degradar moléculas xenobióticas no solo, principalmente moléculas aromáticas de herbicidas persistentes no solo (Eberspächer e Lingens, 2006), que é uma situação frequente devido o uso intensivo de herbicidas nas áreas cultivadas com arroz irrigado no Sul do Brasil (SOSBAI, 2016). Observou-se que após o cultivo de soja comparado à condição original foi a redução da proporção da família *Xanthomonadaceae*, visto que essa família abriga um grupo importante de bactérias fitopagênicas, entre elas a *Xanthomonas oryzae* causadora de doença que atinge a cultura do arroz irrigado (Zhang e Wang, 2013). Possivelmente, a ausência de resíduos vegetais de arroz sob cultivo de soja, substrato mais demandado por *Xanthomonas oryzae*, reduziu a proporção desta bactéria no solo. Por outro lado, o cultivo de soja reduziu a proporção de *Acidobacterias*, que é um dos filios em que mais estão presentes os microrganismos no solo (Jiang et al., 2016). Possivelmente o cultivo da leguminosa tenha contribuído para o aumento dos valores de pH do solo e conseqüentemente tornou-se um ambiente menos favorável aos microrganismos desse filo (Figura 25) (Jiang et al., 2016).

Em relação ao cultivo de arroz irrigado comparado a condição original do solo, evidencia-se maior proporção de bactérias do gênero *Geobacter* (Figura 26), e em relação ao cultivo de soja verificam-se maiores proporções de microrganismos anaeróbios como *Anaerolinea* e *Anaeromyxobacter* (Figura 27).

Esses microrganismos foram encontrados em maior proporção, pois são típicos de ambientes anaeróbios como os cultivados com arroz irrigado sob inundação (Jiang et al., 2016). Tem-se verificado em alguns trabalhos a contribuição de *Geobacter spp* e *Anaeromybacter spp* nas reações de redução de Fe em solos cultivados com arroz irrigado (Hori et al., 2010). O alagamento por ocasião do cultivo de arroz irrigado é um fator que influencia diretamente a atividade (Pandey et al., 2014) e a diversidade (Jiang et al., 2016) da comunidade microbiana do solo. O tempo de alagamento reduz drasticamente a difusão de oxigênio para o solo, mudando completamente o perfil microbiano para uma comunidade anaeróbia e conseqüentemente modificando acentuadamente os ciclos biogeoquímicos no solo (Ponnamperuma, 1972; Carlos et al., 2015; Borin et al., 2016). Alguns trabalhos tem demonstrado uma redução na atividade da microbiota aeróbia do solo, especialmente, a diminuição da atividade de enzimas extracelulares que degradam compostos lábeis em condições sob alagamento (Wang e Lu, 2006; Pandey et al., 2014). Alguns autores relataram em seus trabalhos que o intensivo cultivo de arroz irrigado pode substancialmente reduzir a abundância e diversidade funcional da microbiota do solo (Reichardt et al., 1997). Outros estudos indicam que o alto valor de diversidade em rotações de arroz com leguminosas formam relações mais complexas entre os microrganismos (Jiang et al., 2016). Um outro fator que pode ser relacionado à redução da diversidade microbiana do solo (Figura 28) é que geralmente em ambientes com presença de resíduos vegetais com alta relação C:N e baixa disponibilidade de N (Figura 23), no caso do cultivo de arroz, verifica-se o favorecimento da população fúngica e por antagonismo pode reduzir a proporção de grupos bacterianos (Helal, 2005).

Comparando o cultivo de soja em relação ao de arroz irrigado observou-se que a leguminosa aumentou a proporção de bactérias da família *Rhodospirillaceae* onde se encontram muitas bactérias de vida livre com habilidade para fixação de N<sub>2</sub> (Doty et al., 2016) e que por essa razão também podem contribuir para a maior disponibilidade de N no solo (Figura 23).

Dessa forma, observou-se no presente estudo que há uma grande conexão entre a inserção do cultivo de leguminosas, maior disponibilidade de N no solo, refletindo-se na maior atividade de enzimas extracelulares, aumento da

diversidade microbiana e conseqüentemente em condições mais propícias ao desenvolvimento de azevém. A possibilidade de maior produção de fitomassa da cultura implantada em sucessão, pode ser um passo importante para o início de um ciclo de mudanças no solo diante de rotação de culturas.

## **7.6 Conclusões**

O cultivo de soja em áreas historicamente cultivada com arroz irrigado aumenta a disponibilidade de nitrogênio mineral e a atividade de enzimas extracelulares com reflexos no aumento da diversidade microbiana do solo. Essas significativas mudanças no solo refletem-se no maior desenvolvimento de biomassa vegetal de azevém cultivado em sucessão à soja comparado ao cultivo de arroz irrigado.

Nesse sentido, a rotação de soja em áreas tradicionalmente cultivadas com arroz irrigado é uma alternativa para a melhoria da qualidade do solo, propiciar melhores condições de desenvolvimento de plantas e contribuir para a sustentabilidade da produção agrícola em ambientes de terras baixas no Sul do Brasil.



## 8 CONCLUSÕES GERAIS

Os diferentes preparos do solo modificam a atividade microbiana e a composição da comunidade microbiana do solo sob cultivo de arroz irrigado por longo prazo. Esses sistemas de manejo solo alteram os teores de carbono e nitrogênio, principalmente na camada mais superficial do solo (0-2,5 cm) e, conseqüentemente, aumentam os estoques de carbono e nitrogênio. Em relação a produtividade de grãos de arroz irrigado, nos primeiros 13 anos de adoção da semeadura direta verifica-se menor produtividade e, após esse período, ocorre uma equiparação de produtividade em relação aos demais manejos do solo.

Os SIPA aumentam a disponibilidade dos principais macronutrientes na solução do solo após cultivo sobre pastagens hibernais. Esses sistemas integrados de produção também aumentam a atividade de enzimas extracelulares do solo e as intensificam em áreas sob deposição de placas de esterco.

O uso por longo prazo de coberturas de outono inverno possibilita o maior aporte de resíduos vegetais no período de entre safras que contribui para a maior adição de carbono e nitrogênio ao solo. A adoção das coberturas associado a semeadura direta, possibilita o aumento dos teores de carbono e nitrogênio em superfície (0-2,5 cm) que aumenta os estoques de carbono do solo e a atividade enzimática. Essas mudanças no solo aumentam a produtividade de arroz cultivado sem fertilização em sucessão as coberturas de outono inverno.

O cultivo de soja em área tradicionalmente cultivada com arroz irrigado aumenta disponibilidade de nitrogênio, atividade enzimática e a diversidade microbiana do solo. O cultivo de soja em rotação com o arroz irrigado aumenta substancialmente o desenvolvimento de azevém estabelecido em sucessão.

Dessa forma, a adoção de práticas conservacionistas de manejo do solo em sistemas orizícolas de média e longa duração contribui para o aumento da qualidade do solo.

## 9 PERSPECTIVAS FUTURAS DE PESQUISA

No sentido de avançar no entendimento dos processos que envolvem a qualidade do solo em ambientes de terras baixas cultivado com arroz irrigado e outras culturas em rotação e servir como subsidio para recomendação de manejo sustentável do solo, sugere-se os seguintes estudos e/ou aprofundamentos:

- a) Avaliação da dinâmica do carbono e nitrogênio e suas formas lábeis em sistema de rotação de arroz, soja e milho sob plantio em terras baixas.
- b) Impacto da oscilação do alagamento e aeração do solo no potencial redox, disponibilidade de elementos na solução do solo e composição da comunidade microbiana do solo;
- c) Mineralização de nitrogênio e produção de ácidos orgânicos de diferentes coberturas de solo (gramíneas e leguminosas) e seus reflexos no estabelecimento e desenvolvimento da cultura do arroz irrigado;
- d) Fracionamento do nitrogênio em sistemas integrados de produção agropecuária em terras baixas e sua contribuição para o suprimento de nutrientes para a cultura do arroz irrigado.

## 10 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIVEN, S.; MENASSERI, S.; CHENU, Claire. The effects of organic inputs over time on soil aggregate stability – A literature analysis. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 41, n. 1, p. 1–12, 2009.

ADAM, G.; DUNCAN, H. Development of a sensitive and rapid method for the measurement of total microbial activity using fluorescein diacetate (FDA) in a range of soils. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 33, n. 7–8, p. 943–951, 2001.

AHMAD, A.; BARRY, J.P.; NELSON, D.C. Phylogenetic affinity of a wide, vacuolate, nitrate-accumulating *Beggiatoa* sp. from Monterey Canyon, California, with *Thioploca* spp. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 65, n. 1, p. 270–7, 1999.

ALKORTA, I. et al. Soil enzyme activities as biological indicators of soil health. **Reviews on Environmental Health**, Berlin, v. 18, n. 1, p. 65–73, 2003.

ALLISON, S.D.; VITOUSEK, P.M. Responses of extracellular enzymes to simple and complex nutrient inputs. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 37, n. 5, p. 937–944, 2005.

ALVAREZ, R.; STEINBACH, H.S.; DE PAEPE, J.L. Cover crop effects on soils and subsequent crops in the pampas: a meta-analysis. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 170, p. 53–65, 2017.

AN, N. et al. Immobilization of enzymes on clay minerals for biocatalysts and biosensors. **Applied Clay Science**, Amsterdam, v. 114, p. 283–296, 2015.

ANDRES, A. et al. Rotação de culturas e pousio do solo na redução do banco de sementes de arroz vermelho em solo de varzea. **Current Agricultural Science and Technology**, Pelotas, v. 7, n. 2, 2001.

ANGHINONI, I.; CARVALHO, P.C.F.; COSTA, S.E.V.G.A. Abordagem sistêmica do solo em Sistemas Integrados de Produção Agrícola e Pecuária no subtropical brasileiro. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 8, n. 2, p. 325–380, 2013.

AOYAMA, M.; ANGERS, D.A.; N'DAYEGAMIYE, A. Particulate and mineral-associated organic matter in water-stable aggregates as affected by mineral fertilizer and manure application. **Canadian Journal of Soil Science**, Toronto, v. 79, p. 295–302, 1999.

- ARAÚJO, A.S.F. et al. The effect of converting tropical native savanna to *Eucalyptus grandis* forest on soil microbial biomass. **Land Degradation and Development**, Medford, v. 21, n. 6, p. 540–545, 2010.
- ASSMANN, J.M. et al. Soil carbon and nitrogen stocks and fractions in a long-term integrated crop-livestock system under no-tillage in southern Brazil. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v. 190, p.52-59, 2014.
- ASSMANN, J.M. et al. Carbon and nitrogen cycling in an integrated soybean-beef cattle production system under different grazing intensities. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 50, n. 10, p. 967–978, out. 2015.
- ASSMANN, J.M. et al. Phosphorus and potassium cycling in a long-term no-till integrated soybean-beef cattle production system under different grazing intensities insubtropics. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, Dordrecht, p. 1–13, 2017.
- AYRES, E. et al. The influence of below-ground herbivory and defoliation of a legume on nitrogen transfer to neighbouring plants. **Functional Ecology**, London, v. 21, n. 2, p. 256–263, 2007.
- AYRES, E. et al. Tree physiological responses to above-ground herbivory directly modify below-ground processes of soil carbon and nitrogen cycling. **Ecology Letters**, Medford, v. 7, n. 6, p. 469–479, 2004.
- BABUJIA, L. C. et al. Microbial biomass and activity at various soil depths in a Brazilian oxisol after two decades of no-tillage and conventional tillage. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 42, n. 12, p. 2174–2181, 2010.
- BAILEY, V.L.; SMITH, J.L.; BOLTON, H. Fungal-to-bacterial ratios in soils investigated for enhanced C sequestration. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 34, n. 7, p. 997–1007, 2002.
- BAILEY, V.L. et al. Linking microbial community structure to  $\beta$ -glucosidic function in soil aggregates. **The ISME Journal**, London, v. 7, n. 10, p. 2044–53, 2013.
- BALABANE, M.; PLANTE, A. F. Aggregation and carbon storage in silty soil using physical fractionation techniques. **European Journal of Soil Science**, Oxford, v. 55, n. 2, p. 415–427, 2004.
- BALOTA, E.L. et al. Biomassa Microbiana e sua atividade em solos sob diferentes sistemas de preparo e sucessão de culturas. **Congresso Brasileiro de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 22, n. 1, p. 641–649, 1998.
- BALOTA, E.L. et al. Benefits of winter cover crops and no-tillage for microbial parameters in a Brazilian Oxisol: a long-term study. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v. 197, p. 31–40, 2014.
- BALOTA, E.L. et al. Long-term land use influences soil microbial biomass P and S, phosphatase and arylsulfatase activities, and s mineralization in a Brazilian oxisol. **Land Degradation and Development**, Medford, v. 25, n. 4, p. 397–406,

2014.

BALOTA, E.L. et al. Long-term tillage and crop rotation effects on microbial biomass and C and N mineralization in a Brazilian Oxisol. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 77, n. 2, p. 137–145, 2004.

BALOTA, E.L. et al. Microbial biomass in soils under different tillage and crop rotation systems. **Biology and Fertility of Soils**, Oxford, v. 38, n. 1, p. 15–20, 2003.

BALOTA, E.L. et al. Soil microbial properties after long-term swine slurry application to conventional and no-tillage systems in Brazil. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 490, p. 397–404, 2014.

BALOTA, E.L. et al. Effect of tillage systems and permanent groundcover intercropped with orange trees on soil enzyme activities. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 54, n. 2, p. 221–228, 2011.

BALOTA, E.L. **Manejo e qualidade biológica do solo**. Londrina: MECENAS, 2017. 288 p.

BALOTA, E.L.; AULER, P.A.M. Soil microbial biomass under different management and tillage systems of permanent intercropped cover species in an orange orchard. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 35, n. 6, p. 1873–1883, 2011.

BARDGETT, R.D.; YEATES, G.W.; ANDERSON, J.M. Patterns and determinants of soil biological diversity. In: **BIOLOGICAL diversity and function in soils**. Cambridge: Cambridge University Press, 2005. p. 100-118.

BASTIDA, F. et al. Effects of organic amendments on soil carbon fractions, enzyme activity and humus-enzyme complexes under semi-arid conditions. **European Journal of Soil Biology**, Montrouge, v. 53, p. 94–102, 2012.

BAYER, C. et al. Armazenamento de carbono em frações lábeis da matéria orgânica de um Latossolo Vermelho sob plantio direto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, n. 7, p. 677–683, 2004.

BAYER, C. et al. Effect of no-till cropping systems on soil organic matter in a sandy clay loam Acrisol from Southern Brazil monitored by electron spin resonance and nuclear magnetic resonance. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 53, n. 2, p. 95–104, 2000.

BAYER, C. et al. Stocks and humification degree of organic matter fractions as affected by no-tillage on a subtropical soil. **Plant and Soil**, The Hague, v. 238, n. 1, p. 133–140, 2002.

BEARE, M. Fungal and Bacterial Pathways of Organic Matter Decomposition and Nitrogen Mineralization in Arable Soils. In: BRUSSAARD, L.; FERRARA-CERRATO, R. (Eds.). **Soil ecology in sustainable agricultural systems**. Boca Ratón, FL: CRC/Lewis, 1997. p.37-40

BEARE, M. H. et al. Aggregate-Protected and Unprotected Organic Matter

Pools in Conventional- and No-Tillage Soils. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 58, n. 3, p. 787, 1994.

BEKETOV, M.A. et al. Pesticides reduce regional biodiversity of stream invertebrates. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Madison, v. 110, n. 27, p. 11039–43, 2013.

BELLINGER, B.J. et al. Detrital Floc and Surface Soil Microbial Biomarker Responses to Active Management of the Nutrient Impacted Florida Everglades. **Microbial Ecology**, Bethesda, v. 64, n. 4, p. 893–908, 2012.

BERNARD, S.M.; HABASH, D.Z. The importance of cytosolic glutamine synthetase in nitrogen assimilation and recycling. **New Phytologist**, Lancaster, v. 182, n. 1, p. 608–620, 2009

BLAIR, G.; LEFROY, R.; LISLE, L. Soil carbon fractions based on their degree of oxidation, and the development of a carbon management index for agricultural systems. **Australian Journal of Agricultural Research**, Melbourne, v. 46, n. 7, p. 1459, 1995.

BLAIR, N. et al. Long-term management impacts on soil C, N and physical fertility. Part I: Broadbalk experiment. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 91, n. 1–2, p. 30–38, 2006.

BOCKUS, W.W.; SHROYER, J.P. The impact of reduced tillage on soilborne plant pathogens. **Annual Review of Phytopathology**, Danvers, v. 36, n. 1, p. 485–500, 1998.

BODDEY, R.M. et al. Carbon accumulation at depth in Ferralsols under zero-till subtropical agriculture. **Global Change Biology**, Medford, v. 16, n. 2, p. 784–795, 2010.

BOENI, M. et al. **Evolução de fertilidade dos solos cultivados com arroz irrigado no Rio Grande do Sul**. Cachoeirinha: IRGA, 2010. (Boletim técnico, 8).

BOHNEN, H. et al. Ácidos Orgânicos na Solução de um Gleissolo sob diferentes sistemas de Cultivo com Arroz Irrigado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 2, n. 3, p. 475–480, 2005.

BORIE, F. et al. Effects of tillage systems on soil characteristics, glomalin and mycorrhizal propagules in a Chilean Ultisol. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 88, n. 1, p. 253–261, 2006.

BORIN, J.B.M. et al. Soil solution chemical attributes, rice response and water use efficiency under different flood irrigation management methods. **Agricultural Water Management**, Amsterdam, v. 176, p. 9–17, 2016.

BOTTA, G.F. et al. Alternatives for handling rice (*Oryza sativa* L.) straw to favor its decomposition in direct sowing systems and their incidence on soil compaction. *Geoderma*, Amsterdam, v. 239–240, p. 213–222, 2015.

BRAZ, A.M.S.; FERNANDES, A.R.; ALLEONI, L.R.F. Soil Attributes After The

Conversion From Forest To Pasture In Amazon. **Land Degradation and Development**, Medford, v. 24, n. 1, p. 33–38, 2013.

BRIAR, S.S. et al. The distribution of nematodes and soil microbial communities across soil aggregate fractions and farm management systems. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 43, n. 5, p. 905–914, 2011.

BUGG, T.D.H. et al. The emerging role for bacteria in lignin degradation and bio-product formation. **Current Opinion in Biotechnology**, London, v. 22, n. 3, p. 394-400, 2011.

BURNS, R.G. et al. Soil enzymes in a changing environment: Current knowledge and future directions. **Soil Biology and Biochemistry**, Amsterdam, v. 58, n. 1, p. 216-234, 2013

BUSARI, M.A. et al. Conservation tillage impacts on soil, crop and the environment. **International Soil and Water Conservation Research**, Amsterdam, v. 3, n. 2, p. 119–129, 2015.

CALEGARI, A. et al. Impact of long-term no-tillage and cropping system management on soil organic carbon in an oxisol: A model for sustainability. **Agronomy Journal**, Madison, v. 100, n. 4, p. 1013–1019, 2008.

CALEGARI, A. et al. Long-term effect of different soil management systems and winter crops on soil acidity and vertical distribution of nutrients in a Brazilian Oxisol. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 133, p. 32–39, 2013.

CAMBARDELLA, C.A.; ELLIOTT, E.T. Particulate Soil Organic-Matter Changes across a Grassland Cultivation Sequence. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 56, n. 3, p. 777–783, 1992.

CAPORASO, J.G. et al. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. **Nature Methods**, New York, v. 7, n. 5, p. 335–336, 11 Maio 2010.

CARLOS, F.S. et al. Electrochemical changes and nutrient dynamics in the solution of soil with rice irrigated with treated industrial leachate | Alterações eletroquímicas e dinâmica de nutrientes na solução do solo em arroz irrigado com lixiviado industrial tratado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 39, p. 466-474, n. 2, 2015.

CARLOS, F.S. et al. Irrigation of paddy soil with industrial landfill leachate: impacts in rice productivity, plant nutrition, and chemical characteristics of soil. **Paddy and Water Environment**, Berlin, v. 15, n. 1, p. 133–144, 2016.

CARMONA, F.C. et al. Effectiveness of current fertilizer recommendations for irrigated rice in integrated crop-livestock systems. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.40, 2016.

CARRILLO, Y. et al. Shoot pruning of a hedgerow perennial legume alters the availability and temporal dynamics of root-derived nitrogen in a subtropical setting. **Plant and Soil**, The Hague, v. 345, n. 1–2, p. 59–68, 2011.



- CARVALHO, P.C.F. et al. Managing grazing animals to achieve nutrient cycling and soil improvement in no-till integrated systems. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, Dordrecht, v. 88, n. 2, p. 259–273, 2010.
- CASTRO FILHO, C. et al. Aggregate stability under different soil management systems in a red latosol in the state of Parana, Brazil. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 65, n. 1, p. 45–51, 2002.
- CATTELAN, A.J.; VIDOR, C. Flutuação na biomassa, atividade e população microbiana do solo, em função de variações ambientais. **Revista Brasileira de Ciencia do Solo**, Viçosa, v. 14, p. 133–142, 1990.
- CENINI, V.L. et al. Linkages between extracellular enzyme activities and the carbon and nitrogen content of grassland soils. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 96, p. 198–206, Maio 2016.
- CERRI, C.C.; VOLKOFF, B.; EDUARDO, B.P. Efeito do desmatamento sobre a biomassa microbiana em latossolo amarelo da Amazonia. **Revista Brasileira de Ciencia do Solo**, Viçosa, v. 9, n. 1, p. 1–4, 1985.
- CHAPMAN, S.K.; NEWMAN, G.S. Biodiversity at the plant–soil interface: microbial abundance and community structure respond to litter mixing. **Oecologia**, Heidelberg, v. 162, n. 3, p. 763–769, 2010.
- CHEN, S.K.; LIU, C.W.; CHEN, Y.R. Assessing soil erosion in a terraced paddy field using experimental measurements and universal soil loss equation. **Catena**, Amsterdam, v. 95, p. 131–141, 2012.
- CHEN, X. et al. Microbial community and functional diversity associated with different aggregate fractions of a paddy soil fertilized with organic manure and/or NPK fertilizer for 20 years. **Journal of Soils and Sediments**, Berlin, v. 15, n. 2, p. 292–301, 2015.
- CHESNEY, P.; NYGREN, P. Fine root and nodule dynamics of *Erythrina poeppigiana* in an alley cropping system in Costa Rica. **Agroforestry Systems**, v. 56, n. 3, p. 259–269, 2002.
- CHEVALLIER, T. et al. The physical protection of soil organic carbon in aggregates: a mechanism of carbon storage in a Vertisol under pasture and market gardening (Martinique, West Indies). **Agriculture, Ecosystems & Environment**, Amsterdam, v. 103, n. 2, p. 375–387, 2004.
- CICEK, H. et al. Effects of grazing two green manure crop types in organic farming systems: N supply and productivity of following grain crops. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, Amsterdam, v. 190, p. 27–36, 2014.
- CONCEIÇÃO, P.C.; DIEKOW, J.; BAYER, C. Combined role of no-tillage and cropping systems in soil carbon stocks and stabilization. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 129, p. 40–47, 2013.
- CONGREVES, K.A. et al. Interaction of long-term nitrogen fertilizer application, crop rotation, and tillage system on soil carbon and nitrogen dynamics. **Plant and Soil**, The Hague, v. 410, n. 1–2, p. 113–127, 2017.

COSTA, S.E.V.G.A. et al. Impact of an integrated no-till crop-livestock system on phosphorus distribution, availability and stock. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v. 190, p. 43–51, 2014.

COSTAMILAN, L. M; et al. **Indicações técnicas para a cultura da soja no Rio Grande do Sul e em Santa Catarina, safras 2012/2013 e 2013/2014**. Passo Fundo: Empresa Brasileira de Pesquisa e Agropecuária, 2012. 142 p.

COUNCE, P.A.; KEISLING, T.C.; MITCHELL, A.J. A Uniform, Objective, and Adaptive System for Expressing Rice Development. **Crop Science**, New York, v. 40, p. 436–443, 2000.

CQFS-RS/SC. Comissão de Química e Fertilidade do Solo dos Estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina. **Manual de adubação e calagem para os Estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina**. Porto Alegre: SBCSNRS/EMBRAPA-CNPT, 2004. 400 p.

CURAQUEO, G. et al. Effects of different tillage system on arbuscular mycorrhizal fungal propagules and physical properties in a Mediterranean agroecosystem in central Chile. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 113, n. 1, p. 11–18, 2011.

DABNEY, S.M. et al. Using Cover Crops and Cropping Systems for Nitrogen Management. In: **ADVANCES in Nitrogen Management for Water Quality**. Oxford, 2010. p. 230–281.

DANG, Y.P. et al. Strategic tillage in no-till farming systems in Australia's northern grains-growing regions: II. Implications for agronomy, soil and environment. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 152, p. 115–123, 2015.

DE SANCTIS, G. et al. Long-term no tillage increased soil organic carbon content of rain-fed cereal systems in a Mediterranean area. **European Journal of Agronomy**, Amsterdam, v. 40, p. 18–27, 2012.

DEMOLING, F.; FIGUEROA, D.; BÅÅTH, E. Comparison of factors limiting bacterial growth in different soils. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 39, n. 10, p. 2485–2495, 2007.

DENG, S. P.; TABATABAI, M. A. Effect of tillage and residue management on enzyme activities in soils: III. Phosphatases and arylsulfatase. **Biology and Fertility of Soils**, Heidelberg, v. 24, n. 2, p. 141–146, 1997.

DERPSCH, R.; FRIEDRICH, T. **Development and Current Status of No-till Adoption in the World**. Izmir, Turkey, 2009. p. 1–13. Disponível em: <[http://www.fao.org/ag/ca/ca-publications/istro\\_2009.pdf](http://www.fao.org/ag/ca/ca-publications/istro_2009.pdf)>. Acesso em: 28 abr 2017.

DEVÊVRE, O.C.; HORWÁTH, W.R. Decomposition of rice straw and microbial carbon use efficiency under different soil temperatures and moistures. **Soil Biology and Biochemistry**, Amsterdam, v. 32, p. 1773–2000, 2000.

DICK, R.P. A review: long-term effects of agricultural systems on soil

biochemical and microbial parameters. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v. 40, n. 1–4, p. 25–36, 1992.

DIEKOW, J. et al. Soil C and N stocks as affected by cropping systems and nitrogen fertilisation in a southern Brazil Acrisol managed under no-tillage for 17 years. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 81, n. 1, p. 87–95, 2005.

DOMÍNGUEZ, A.; BEDANO, J.C.; BECKER, A.R. Negative effects of no-till on soil macrofauna and litter decomposition in Argentina as compared with natural grasslands. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 110, n. 1, p. 51–59, 2010.

DONG, W. et al. Impact of no tillage vs. conventional tillage on the soil bacterial community structure in a winter wheat cropping succession in northern China. **European Journal of Soil Biology**, Montrouge, v. 80, p. 35–42, 2017.

DORAN, J.W.; PARKIN, T.B. Defining and assessing soil quality. In: DEFINING soil quality for a sustainable environment. Madison, Wisconsin: Soil Science Society of America, Inc. American Society of Agronomy, Inc., 1994. p. 2-21.

DORAN, J.W. Soil microbial and biochemical changes associated with reduced tillage. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 44, p. 765–771, 1980.

DORAN, J.W.; ZEISS, M.R. Soil health and sustainability: managing the biotic component of soil quality. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 15, n. 1, p. 3–11, 2000.

DOSSOU-YOVO, E.R. et al. Combining no-tillage, rice straw mulch and nitrogen fertilizer application to increase the soil carbon balance of upland rice field in northern Benin. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 163, p. 152–159, 2016.

DOTY, S.L. et al. Variable Nitrogen Fixation in Wild Populus. **PLoS ONE**, San Francisco, v. 11, n. 5, p. 1-22, 2016.

EBERSPÄCHER, J.; LINGENS, F. **The Genus Phenylobacterium**. In: THE PROKARYOTES. New York, NY: Springer, 2006. p. 250–256.

EDGAR, R.C. UPARSE: highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads. **Nature Methods**, New York, v. 10, n. 10, p. 996–998, 18 Ago 2013.

EMBRAPA. **Manual de Métodos de Análise de Solo**. 2. ed. Rio de Janeiro, 1997. 212 p.

EUSTERHUES, K.; RUMPEL, C.; KOGEL-KNABNER, I. Organo-mineral associations in sandy acid forest soils: importance of specific surface area, iron oxides and micropores. **European Journal of Soil Science**, Amsterdam, v. 56, p. 753-763, 2005.

FAGERIA, N.K.; BALIGAR, V.C.; BAILEY, B.A. Role of Cover Crops in Improving Soil and Row Crop Productivity. **Communications in Soil Science**

**and Plant Analysis**, New York, v. 36, n. 19–20, p. 2733–2757, 2005.

FEBRAPDP. **Federação brasileira de plantio direto e irrigação**. [2016]. Disponível em: <<http://www.febrapdp.org.br/>>. Acesso em: 10 jul 2016.

FENG, Y. et al. Soil microbial communities under conventional-till and no-till continuous cotton systems. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 35, n. 12, p. 1693–1703, 2003.

FEPAGRO. **Indicações técnicas para o cultivo de milho e de sorgo no Rio Grande do Sul safras 2009/2010 e 2010/2011**. Porto Alegre, 2009. 140 p.

FERREIRA, E.P.B.; WENDLAND, A.; DIDONET, A.D. Microbial biomass and enzyme activity of a Cerrado Oxisol under agroecological production system. **Bragantia**, Campinas, v. 70, n. 4, p. 899–907, 2011.

FERREIRA, E.V.O. et al. Concentração de potássio do solo em sistemas de integração lavoura-pecuária em plantio direto submetido a intensidades de pastejo. **Revista Brasileira de Ciencia do Solo**, Viçosa, v. 33, p. 1675–1684, 2009.

FERREIRA, M.C. et al. Tillage method and crop rotation effects on the population sizes and diversity of bradyrhizobia nodulating soybean. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 32, n. 5, p. 627–637, 2000.

FIGUEROLA, E.L.M. et al. Crop monoculture rather than agriculture reduces the spatial turnover of soil bacterial communities at a regional scale. **Environmental Microbiology**, Washington, v. 17, n. 3, p. 678–688, 2015.

FRANCHINI, J.C. et al. Microbiological parameters as indicators of soil quality under various soil management and crop rotation systems in southern Brazil. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 92, n. 1–2, p. 18–29, 2007.

FRANZLUEBBERS, A.J. Integrated crop-livestock systems in the southeastern USA. **Agronomy Journal**, Madison, v. 99, p. 361–372, 2017.

FREY, S.D.; ELLIOTT, E.T.; PAUSTIAN, K. Bacterial and fungal abundance and biomass in conventional and no-tillage agroecosystems along two climatic gradients. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 31, n. 4, p. 573–585, 1999.

GALE, W.J.; CAMBARDELLA, C.A. Carbon dynamics of surface residue- and root-derived organic matter under simulated no-till. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 64, n. 1, p. 190–195, 2000.

GALON, L. et al. Resistência de *Cyperus difformis* a herbicidas inibidores da ALS em lavoura de arroz irrigado em Santa Catarina. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 26, n. 2, p. 419–427, 2008.

GARCÍA-ORENES, F. et al. Soil microbial biomass and activity under different agricultural management systems in a semiarid Mediterranean agroecosystem. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 109, n. 2, p. 110–115, 2010.

GESSNER, M.O. et al. Diversity meets decomposition. **Trends in Ecology and**

**Evolution**, Amsterdam, v. 25, n. 6, p. 372-380 , 2010

GOMAA, N.H. et al. Flavonoid profiling and nodulation of some legumes in response to the allelopathic stress of *Sonchus oleraceus* L. **Acta Botanica Brasilica**, Belo Horizonte, v. 29, n. 4, p. 553–560, 2015.

GOVAERTS, B. et al. Influence of tillage, residue management, and crop rotation on soil microbial biomass and catabolic diversity. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 37, n. 1–2, p. 18–30, 2007.

HANKE, A. et al. Redox control on carbon mineralization and dissolved organic matter along a chronosequence of paddy soils. **European Journal of Soil Science**, Oxford, v. 64, n. 4, p. 476–487, 2013.

HANSON, C.A. et al. Beyond biogeographic patterns: processes shaping the microbial landscape. **Nature Reviews Microbiology**, New York, v. 10, n. 7, p. 497–506, 2012.

HAYNES, R.J. Size and activity of the soil microbial biomass under grass and arable management. **Biology and Fertility of Soils**, Heidelberg, v. 30, n. 3, p. 210–216, 1999.

HEDGES, J.I.; OADES, J.M. Comparative organic geochemistries of soils and marine sediments. **Organic Geochemistry**, Amsterdam, v. 27, n 7-8, p. 319–361, 1997.

HEINZE, S.; RAUBER, R.; JOERGENSEN, R.G. Influence of mouldboard plough and rotary harrow tillage on microbial biomass and nutrient stocks in two long-term experiments on loess derived Luvisols. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 46, n. 3, p. 405–412, 2010.

HELAL, G A. Bioconversion of straw into improved fodder: fungal flora decomposing rice straw. **Mycobiology**, Seoul, v. 33, n. 3, p. 150–157, 2005.

HILL, Erin C. et al. Cover Crop Impact on Weed Dynamics in an Organic Dry Bean System. **Weed Science**, Champaign, v. 64, n. 2, p. 261–275, 20 Jun 2016.

HOLZSCHUH, M.J. et al. Resposta do arroz irrigado ao suprimento de amônio e nitrato. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 33, n. 5, p. 1323–1331, 2009.

HORI, T. et al. Identification of iron-reducing microorganisms in anoxic rice paddy soil by <sup>13</sup>C-acetate probing. **The ISME Journal**, London, v. 4, n. 2, p. 267–278, 2010.

HUNGRIA, M. et al. Soil microbial activity and crop sustainability in a long-term experiment with three soil-tillage and two crop-rotation systems. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 42, n. 3, p. 288–296, 2009.

HUNGRIA, M.; STACEY, G. Molecular signals exchanged between host plants and rhizobia: Basic aspects and potential application in agriculture. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 29, n. 5–6, p. 819–830, 1997.

- HUNGRIA, M.; VARGAS, M.A.T. Environmental factors affecting N<sub>2</sub> fixation in grain legumes in the tropics, with an emphasis on Brazil. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 65, n. 2–3, p. 151–164, 2000.
- INSALUD, N. et al. Morphological and Physiological Responses of Rice (*Oryza sativa*) to Limited Phosphorus Supply in Aerated and Stagnant Solution Culture. **Annals of Botany**, Oxford, v. 98, p. 995–1004, 2006.
- IRGA. **Custo de produção ponderado do arroz irrigado do Rio Grande do Sul**. [2017]. Disponível em: <<http://www.irga.rs.gov.br>>. Acesso em: 7 out 2017.
- IRRI. **Rice facts**. [2016]. Disponível em: <<http://irri.org>>. Acesso em: 22 ago 2016.
- ISOBE, K. et al. Flavonoids in the Extract and Exudate of the Roots of Leguminous Crops. **Plant Production Science**, Kyoto, v. 4, n. 4, p. 278–279, 2001.
- ISOBE, K.; TSUBOKI, Y. Relationship between the Amount of Root Exudate and the Infection Rate of Arbuscular Mycorrhizal Fungi in Gramineous and Leguminous Crops. **Plant Production Science**, Kyoto, v. 1, n. 1, p. 37–38, 1998.
- JIANG, X. et al. Tillage-induced changes in fungal and bacterial biomass associated with soil aggregates: A long-term field study in a subtropical rice soil in China. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 48, n. 2, p. 168–173, 2011.
- JIANG, Y. et al. Crop rotations alter bacterial and fungal diversity in paddy soils across East Asia. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 95, p. 250–261, 2016.
- JOHNSON, S.E. et al. Faster anaerobic decomposition of a brittle straw rice mutant: Implications for residue management. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 38, n. 7, p. 1880–1892, 2006.
- KARLEN, D.L. et al. Long-term tillage effects on soil quality. **Soil Tillage Research**, Amsterdam, v. 32, p. 313–327, 1994.
- KASCHUK, G. et al. Differences in common bean rhizobial populations associated with soil tillage management in southern Brazil. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 87, n. 2, p. 205–217, 2006.
- KASCHUK, G.; ALBERTON, O.; HUNGRIA, M. Three decades of soil microbial biomass studies in Brazilian ecosystems: Lessons learned about soil quality and indications for improving sustainability. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 42, n.1, p. 1–13, 2010
- KISKOWSKI, M.A.; JIANG, Y.; ALBER, M.S. Role of streams in myxobacteria aggregate formation. **Physical Biology**, Bristol, v. 1, n. 3, p. 173–183, 2004.
- KUMAR, K.; GOH, K.M. Nitrogen Release from Crop Residues and Organic Amendments as Affected by Biochemical Composition. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v. 34, n. 17–18, p. 2441–2460,

2003.

KURAMAE, E.E. et al. Soil characteristics more strongly influence soil bacterial communities than land-use type. **FEMS Microbiology Ecology**, Amsterdam, v. 79, n. 1, p. 12–24, Jan 2012.

LAL, R.; PIERCE, F.J. The vanishing resource. In: LAL, R.; PIERCE, F.J. (Eds.) **Soil management for sustainability**. Ankeny: Soil Water Conservation Society, 1991. p.1-5.

LAL, R.; REICOSKY, D.C.; HANSON, J.D. Evolution of the plow over 10,000 years and the rationale for no-till farming. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 93, n. 1, p. 1–12, 2007.

LANGE, M. et al. Plant diversity increases soil microbial activity and soil carbon storage. **Nature Communications**, New York, v. 6, p. 6707, 7 abr 2015.

LAVADO, R.S.; SIERRA, J.O.; HASHIMOTO, P.N. Impact of grazing on soil nutrients in a Pampean grassland. **Journal of Range Management**, Denver, v. 49, p. 452–457, 1996.

LEE, D.; ZO, Y.; KIM, S. Nonradioactive method to study genetic profiles of natural bacterial communities by Nonradioactive Method To Study Genetic Profiles of Natural Bacterial Communities by PCR – Single-Strand-Conformation Polymorphism. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 62, n. 9, p. 3112–3120, 1996.

LEMAIRE, G. et al. Integrated crop–livestock systems: Strategies to achieve synergy between agricultural production and environmental quality. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, Amsterdam, v. 190, p. 4–8, Jun 2014.

LI, X. et al. Changes in the composition and diversity of microbial communities during anaerobic nitrate reduction and Fe(II) oxidation at circumneutral pH in paddy soil. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 94, n. 94, p.10, 2015.

LIANG, B. et al. Black Carbon Increases Cation Exchange Capacity in Soils. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 70, n. 5, p. 1719, 2006.

LIESACK, W. Microbiology of flooded rice paddies. **FEMS Microbiology Reviews**, Amsterdam, v. 24, n. 5, p. 625–645, 2000.

LIESACK, W.; SCHNELL, S.; REVSBECH, N.P. Microbiology of flooded rice paddies. **FEMS Microbiology Reviews**, Amsterdam v. 24, n. 5, p. 625–45, Dez 2000.

LIU, J. et al. Potential phosphorus release from catch crop shoots and roots after freezing-thawing. **Plant and Soil**, The Hague, v. 371, n. 1–2, p. 543–557, 2013.

LIU, J.; BERGKVIST, G.; ULÉN, B. Biomass production and phosphorus retention by catch crops on clayey soils in southern and central Sweden. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 171, p. 130–137, 2015.

LIU, J. et al. Soil carbon content drives the biogeographical distribution of fungal communities in the black soil zone of northeast China. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 83, p. 29–39, 2015.

LOUARN, G. et al. An empirical model that uses light attenuation and plant nitrogen status to predict within-canopy nitrogen distribution and upscale photosynthesis from leaf to whole canopy. **AoB PLANTS**, [S.l.], v. 7, 2015.

LOVATO, T. et al. Adição de carbono e nitrogênio e sua relação com os estoques no solo e com o rendimento do milho em sistemas de manejo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 28, n. 1, p. 175–187, 2004.

LOZUPONE, C.A.; KNIGHT, R. Global patterns in bacterial diversity. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, Washington, v. 104, n. 27, p. 11436–11440, 2007.

MARTINS, A.P. et al. Amelioration of soil acidity and soybean yield after surface lime reapplication to a long-term no-till integrated crop-livestock system under varying grazing intensities. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 144, p. 141-149, 2014.

MARTINS, A.P. et al. Short-term Impacts on Soil-quality Assessment in Alternative Land Uses of Traditional Paddy Fields in Southern Brazil. **Land Degradation & Development**, Medford, v. 28, n. 2, p. 534–542, 2017.

MARXSEN, J.; ZOPPINI, A.; WILCZEK, S. Microbial communities in streambed sediments recovering from desiccation. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 71, n. 3, p. 374–386, 2010.

MATSON, P.A. Agricultural Intensification and Ecosystem Properties. **Science**, Palo Alto, v. 277, n. 5325, p. 504–509, 1997.

MCDANIEL, M.D. et al. Crop rotation complexity regulates the decomposition of high and low quality residues. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 78, p. 243–254, 2014.

MCDANIEL, M.D.; GRANDY, A. S. Soil microbial biomass and function are altered by 12 years of crop rotation. **Soil**, Göttingen, v. 2, p. 583–599, 2016.

MCDONALD, D. et al. An improved Greengenes taxonomy with explicit ranks for ecological and evolutionary analyses of bacteria and archaea. **The ISME Journal**, London, v. 6, n. 3, p. 610–8, 2012.

MCDONALD, P. et al. **Animal nutrition**. 7th ed. London, [S.n.], 2010. 714 p.

MENDES, I.C. et al. Propriedades biológicas em agregados de um Latossolo Vermelho-Escuro sob plantio convencional e direto no Cerrado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 27, n. 3, p. 435–443, 2003.

MENEZES, V.G. et al. **Projeto 10 – estratégias de manejo para aumento da produtividade e da sustentabilidade da lavoura de arroz irrigado no RS: avanços e novos desafios**. Cachoeirinha-RS: Estação Experimental do Arroz, IRGA, 2012. 104 p.



- MENEZES, V.G. et al. Semeadura direta de genótipos de arroz irrigado em sucessão a espécies de cobertura de inverno. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 36, n. 9, p. 1107–1115, 2001.
- MERTEN, G.H.; MINELLA, J.P.G. The expansion of Brazilian agriculture: Soil erosion scenarios. **International Soil and Water Conservation Research**, Amsterdam, v. 1, n. 3, p. 37–48, 2013.
- MIGUEZ, F.E.; BOLLERO, G.A. Review of Corn Yield Response under Winter Cover Cropping Systems Using Meta-Analytic Methods. **Crop Science**, New York, v. 45, n. 6, p. 2318, 2005.
- MIKHA, M.M.; RICE, C.W. Tillage and Manure Effects on Soil and Aggregate-Associated Carbon and Nitrogen. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 68, n. 3, p. 809, 2004.
- MONTGOMERY, D.R. Soil erosion and agricultural sustainability. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Madison, v. 104, n. 33, p. 13268–72, 2007.
- MOTT, G.O.; LUCAS, H.L. The design, conduct, and interpretation of grazing trials on cultivated and improved pastures. In: INTERNATIONAL GRASSLAND CONGRESS, 6<sup>o</sup>, Pennsylvania, 1952. [**Prodeedings...**]. Pennsylvania, 1952. p. 1380–1385.
- MUNDSTOCK, C.M..et al. **Projeto Soja 6000: Manejo para Alta Produtividade em Terras Baixas**. Porto Alegre, 2017. 122 p.
- NANNIPIERI, P. et al. Role of phosphatase enzymes in soil. In: PHOSPHORUS in action: biological processes in soil phosphorus cycling. 2011. p 1-27.
- NASCIMENTO, P.C. et al. Sistemas de manejo e a matéria orgânica de solo de várzea com cultivo de arroz. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 33, p. 1821–1827, 2009.
- NIEMEYER, J.C. et al. Microbial indicators of soil health as tools for ecological risk assessment of a metal contaminated site in Brazil. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 59, p. 96–105, 2012.
- NOGUEIRA, M.A. et al. Promising indicators for assessment of agroecosystems alteration among natural, reforested and agricultural land use in southern Brazil. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v. 115, n. 1–4, p. 237–247, 2006.
- O'CONNELL, S. et al. Short-term nitrogen mineralization from warm-season cover crops in organic farming systems. **Plant and Soil**, The Hague, v. 396, n. 1–2, p. 353–367, 2015.
- O'REILLY, K.A. et al. Nitrogen cycling, profit margins and sweet corn yield under fall cover crop systems. **Canadian Journal of Soil Science**, Toronto, v. 92, n. 2, p. 353–365, 2012.
- OFOSU-BUDU, K.G.; SANEOKA, H.; FUJITA, K. Analysis of factors controlling

dinitrogen fixation and nitrogen release in soybean using pod removal, stem girdling, and defoliation. **Soil Science and Plant Nutrition**, Tokyo, v. 41, n. 3, p. 407–416, 1995.

OLIVEIRA, J.R.A.; MENDES, I.C.; VIVALDI, L. Carbono da biomassa microbiana em solos de cerrado sob vegetação nativa e sob cultivo: avaliação dos métodos fumigação-incubação e fumigação-extração. **Revista Brasileira de Ciencia do Solo**, Viçosa, v. 25, p. 863–871, 2001.

OLIVEIRA, O.C. et al. Chemical and biological indicators of decline/degradation of Brachiaria pastures in the Brazilian Cerrado. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, Amsterdam, v. 103, n. 2, p. 289–300, 2004.

PAN, G. et al. Storage and sequestration potential of topsoil organic carbon in China's paddy soils. **Global Change Biology**, Medford, v. 10, n. 1, p. 79–92, 2004.

PANDEY, D.; AGRAWAL, M.; BOHRA, J.S. Effects of conventional tillage and no tillage permutations on extracellular soil enzyme activities and microbial biomass under rice cultivation. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 136, p. 51–60, 2014.

PARKIN, T.B. Soil microsites as a source of denitrification variability. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 51, p. 1194–1199, 1987.

PASTORELLI, R. et al. Consequences on macroporosity and bacterial diversity of adopting no-tillage farming system in a clayish soil of Central Italy. **Soil Biology and Biochemistry**, Amsterdam, v. 66, p. 78–93, 2013.

PEREGRINA, F.; PÉREZ-ÁLVAREZ, E.P.; GARCÍA-ESCUADERO, E. Soil microbiological properties and its stratification ratios for soil quality assessment under different cover crop management systems in a semiarid vineyard. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, Landau, v. 177, n. 4, p. 548–559, Ago 2014.

PEREIRA, A.A. et al. Variações qualitativas e quantitativas na microbiota do solo e na fixação biológica do nitrogênio sob diferentes manejos com soja. **Revista Brasileira de Ciencia do Solo**, Viçosa, v. 31, p. 1397–1412, 2007.

PINTO, L. F. S.; LAUS NETO, J. A.; PAULETTO, E. A. Solos de várzea do Sul do Brasil cultivados com arroz irrigado. In: GOMES, A. S.; MAGALHÃES, A. M. (Ed.). **Arroz Irrigado no Sul do Brasil**. Brasília: Embrapa, 2004. p. 75-96.

PONNAMPERUMA, F.N. The Chemistry of Submerged Soils. **Advances in Agronomy**, Amsterdam, v. 24, p. 29-96, 1972.

PYLRO, V.S. et al. Brazilian Microbiome Project: Revealing the Unexplored Microbial Diversity—Challenges and Prospects. **Microbial Ecology**, Bethesda, v. 67, n. 2, p. 237–241, 2014.

QUADROS, P.D. et al. The effect of tillage system and crop rotation on soil microbial diversity and composition in a subtropical Acrisol. **Diversity**, Basel, v. 4, n. 4, p. 375–395, 2012.

RANGEL, O.J.P.; SILVA, C.A. Estoques de carbono e nitrogênio e frações orgânicas de Latossolo submetido a diferentes sistemas de uso e manejo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 31, n. 6, p. 1609–1623, 2007.

REICHARDT, W. et al. Microbial communities of continuously cropped, irrigated rice fields. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 63, n. 1, p. 233–8, 1997.

ROSA, C.M. et al. Conteúdo de carbono orgânico em planossolo háplico sob sistemas de manejo do arroz irrigado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 35, n. 5, p. 1769–1776, 2011.

RUSSELLE, M.P. Nitrogen Cycling in Pasture and Range. **Journal of Production Agriculture**, Madison, v. 5, n. 1, p. 13, 1992.

SÁ, J.C.M. Manejo da fertilidade do solo no sistema plantio direto. In: INTER-RELAÇÃO fertilidade, biologia do solo e nutrição de plantas. Lavras, SBCS/UFLA/DCS, 1999. p. 267–319.

SADIK, N. **Population growth and the food crisis**. Agriculture and Consumer Protection. [ 2017]. Disponível em: <<http://www.fao.org/docrep/U3550t/u3550t02.htm>> Acesso em: 16 abr 2017.

SAHANI, U.; BEHERA, N. Impact of deforestation on soil physicochemical characteristics, microbial biomass and microbial activity of tropical soil. **Land Degradation and Development**, Medford, v. 12, n. 2, p. 93–105, 2001.

SAINJU, U.M.; CAESAR-TONTHAT, T.; JABRO, J.D. Carbon and Nitrogen Fractions in Dryland Soil Aggregates Affected by Long-term Tillage and Cropping Sequence. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 73, p. 1488–1495, 2009.

SANTOS, N.Z. et al. Forages, cover crops and related shoot and root additions in no-till rotations to C sequestration in a subtropical Ferralsol. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 111, n. 2, p. 208–218, 2011.

SCHMIDT, F. et al. Resíduos de azevém na superfície de um Planossolo alagado e seus efeitos na concentração de nutrientes na solução do solo e em plantas de arroz. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.39, n.7, p. 2080–2086, 2009.

SIGNOR, D.; CERRI, C.E.P.; CONANT, R. N<sub>2</sub>O emissions due to nitrogen fertilizer applications in two regions of sugarcane cultivation in Brazil. **Environmental Research Letters**, Bristol, v. 8, n. 1, p. 15013, 1 Mar 2013.

SILVA, A.P. et al. Soil structure and its influence on microbial biomass in different soil and crop management systems. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 142, p. 42–53, 2014.

SINGH, P. et al. Functional and Edible Uses of Soy Protein Products. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, Chicago, v. 7, n. 1, p. 14–28, 2008.

- SINSABAUGH, R.L.; SHAH, J.J.F. Ecoenzymatic stoichiometry of recalcitrant organic matter decomposition: the growth rate hypothesis in reverse. **Biogeochemistry**, Netherlands, v. 102, p. 31–43, 2011.
- SISTI, C.P.J. et al. Change in carbon and nitrogen stocks in soil under 13 years of conventional or zero tillage in southern Brazil. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 76, n. 1, p. 39–58, 2004.
- SIX, J. et al. Bacterial and Fungal Contributions to Carbon Sequestration in Agroecosystems. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 70, n. 2, p. 555, 2006.
- SIX, J.; ELLIOTT, E.T.; PAUSTIAN, K. Soil macroaggregate turnover and microaggregate formation: A mechanism for C sequestration under no-tillage agriculture. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 32, n. 14, p. 2099–2103, 2000.
- SOKAL, R.R. Testing Statistical Significance of Geographic Variation Patterns. **Systematic Zoology**, Washington, v. 28, n. 2, p. 227, Jun 1979.
- SOSBAI. **Arroz Irrigado - Recomendações técnicas da pesquisa para o Sul do Brasil**. Bento Gonçalves, 2016. 200 p.
- SOUZA, R.C. et al. Metagenomic analysis reveals microbial functional redundancies and specificities in a soil under different tillage and crop-management regimes. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 86, p. 106–112, 2015.
- SOUZA, R.C. et al. Soil metagenomics reveals differences under conventional and no-tillage with crop rotation or succession. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 72, p. 49–61, 2013.
- SOUZA, E.D. et al. Biomassa microbiana do solo em sistema de integração lavoura-pecuária em plantio direto, submetido a diferentes a intensidades de pastejo. **Revista Brasileira de Ciencia do Solo**, Viçosa, v. 34, p. 79–88, 2008.
- SPEHN, E.M. et al. The role of legumes as a component of biodiversity in a cross-European study of grassland biomass nitrogen. **Oikos**, Lund, v. 98, p. 205–218, 2002.
- SRINIVASAN, V.; MAHESWARAPPA, H.P.; LAL, R. Long term effects of topsoil depth and amendments on particulate and non particulate carbon fractions in a Miamian soil of Central Ohio. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 121, p. 10–17, 2012.
- STAVI, I. et al. Implications of cover crops for soil quality and geodiversity in a humid-temperate region in the midwestern USA. **Land Degradation and Development**, Medford, v. 23, n. 4, p. 322–330, 2012a.
- STOCKFISCH, N.; FORSTREUTER, T.; EHLERS, W. Ploughing effects on soil organic matter after twenty years of conservation tillage in Lower Saxony, Germany. **Soil & Tillage Research**, Amsterdam, v. 52, n. 1–2, p. 91–101, 1999.

STOTZKY, G. Activity, ecology, and population dynamics. **Critical Reviews in Microbiology**, Cleveland, v. 1, n. 1, p. 59–137, 1972.

STRECK, E.V. et al. **Solos do Rio Grande do Sul**. 2. ed. Porto Alegre: Emater-RS, 2008. 222p.

SULEIMAN, A.K.A. et al. Replacement of native vegetation alters the soil microbial structure in the Pampa biome. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 74, n. 1, p. 77–84, 2017.

SUN, Y. et al. No-tillage controls on runoff: A meta-analysis. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 153, p. 1–6, 2015..

SZOBOSZLAY, M. et al. The Effect of Root Exudate 7,4'-Dihydroxyflavone and Naringenin on Soil Bacterial Community Structure. **PLoS ONE**, San Francisco, v. 11, n. 1, p. 1-16, 2016.

TABATABAI, M.A. Soil Enzymes. *Methods of Soil Analysis, Part 2. Microbiological and Biochemical Properties*, Madison, v. 9, n. 2082, p. 903–947, 1982.

TAYLOR, J.P. et al. Comparison of microbial numbers and enzymatic activities in surface soils and subsoils using various techniques. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 34, n. 3, p. 387–401, 2002.

TEDESCO, M.J. et al. **Análises de solo, plantas e outros materiais**. Porto Alegre: Departamento de Solos/UFRGS, 1995. 174 p.

THILAKARATHNA, M.S. et al. Belowground nitrogen transfer from legumes to non-legumes under managed herbaceous cropping systems. A review. **Agronomy for Sustainable Development**, Paris, v. 36, n. 4, p. 58, 2016.

TRASAR-CEPEDA, C.; LEIRÓS, M.C.; GIL-SOTRES, F. Hydrolytic enzyme activities in agricultural and forest soils. Some implications for their use as indicators of soil quality. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 40, n. 9, p. 2146–2155, 2008.

TSCHARNTKE, T. et al. Landscape constraints on functional diversity of birds and insects in tropical agroecosystems. **Ecology**, Ithaca, v. 89, n. 4, p. 944–51, Abr 2008.

US SOIL TAXONOMY. **Soil taxonomy**: a basic system of soil classification for making and interpreting soil surveys. Washington, 1999. 886 p.

USDA. **World Agricultural Production**. [2017]. Disponível em: <<http://www.usda.gov>>. Acesso em: 10 out 2017.

VALPASSOS, M.A.R. et al. Effects of soil management systems on soil microbial activity, bulk density and chemical properties. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 36, n. 12, p. 1539–1545, 2001.

VANCE, E.D.; BROOKES, P.C.; JENKINSON, D.S. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 19, n. 6, p. 703–707, 1987.

- VARGAS, L.K.; SELBACH, P.A.; SÁ, E.L.S. Alterações microbianas no solo durante o ciclo do milho nos sistemas plantio direto e convencional. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, n. 8, p. 749–755, 2004.
- VEZZANI, F.M.; MIELNICZUK, J. Uma Visão sobre qualidade do solo. **Revista Brasileira de Ciencia do Solo**, Viçosa, v. 33, n. 1, p. 743–755, 2009.
- WAGAI, R.; MAYER, L.M. Sorptive stabilization of organic matter in soils by hydrous iron oxides. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, Amsterdam, v. 71, n. 1, p. 25–35, 2007.
- WANG, J. et al. Methane emissions from a rice agroecosystem in South China: Effects of water regime, straw incorporation and nitrogen fertilizer. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, Dordrecht, v. 93, n. 1, p. 103–112, 2012.
- WANG, X.C.; LU, Q. Effect of Waterlogged and Aerobic Incubation on Enzyme Activities in Paddy Soil. **Pedosphere**, Beijing, v. 16, n. 4, p. 532–539, 2006.
- WEISSKOPF, L. et al. Spatio-temporal dynamics of bacterial communities associated with two plant species differing in organic acid secretion: A one-year microcosm study on lupin and wheat. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 40, n. 7, p. 1772–1780, 2008.
- WERTZ, J.T. et al. Genomic and physiological characterization of the Verrucomicrobia isolate *Diplosphaera colitermitum* gen. nov., sp. nov., reveals microaerophily and nitrogen fixation genes. **Applied and environmental microbiology**, Washington, v. 78, n. 5, p. 1544–55, Mar 2012.
- WHITEHEAD, D. C. **Nutrient elements in grassland: soil-plant-animal relationships**. Wallingford, CABI , 2000 , 369 p.
- WISSING, L. et al. Organic carbon accumulation on soil mineral surfaces in paddy soils derived from tidal wetlands. **Geoderma**, Amsterdam, v. 228–229, p. 90–103, 2014.
- YANG, X. et al. Methane emissions from double rice agriculture under long-term fertilizing systems in Hunan, China. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v. 137, n. 3–4, p. 308–316, 2010.
- ZANATTA, J.A. et al. Soil organic carbon accumulation and carbon costs related to tillage, cropping systems and nitrogen fertilization in a subtropical Acrisol. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 94, n. 2, p. 510–519, 2007.
- ZHANG, H.; WANG, S. Rice versus *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*: a unique pathosystem. **Current Opinion in Plant Biology**, Amsterdam, v. 16, n. 2, p. 188–195, 2013.
- ZHANG, Q. et al. Effects of Different Organic Manures on the Biochemical and Microbial Characteristics of Albic Paddy Soil in a Short-Term Experiment. **PLoS ONE**, San Francisco, v. 10, n. 4, 2015.
- ZHOU, Y. et al. Variation in Soil Microbial Community Structure Associated with Different Legume Species Is Greater than that Associated with Different Grass

Species. **Frontiers in Microbiology**, Lausanne, v. 8, p. 1007, 2017.

ZHU, L. et al. Effects of Different Tillage and Straw Return on Soil Organic Carbon in a Rice-Wheat Rotation System. **PLoS ONE**, San Francisco, v. 9, n. 2, 2014.

## **11 RESUMO BIOGRÁFICO**

Filipe Selau Carlos, filho de Sandramara Selau Carlos e João Carlos, nasceu em 6 de agosto de 1988 em Santana do Livramento, Rio Grande do Sul, onde realizou seus estudos de ensino fundamental e médio no Colégio Estadual Alceu Wamosy. Em março de 2006, aos 17 anos de idade, mudou-se para Porto Alegre, onde ingressou na Faculdade de Engenharia Agrícola da Ulbra, Canoas-RS e concluiu seu curso no segundo semestre de 2009. Em março de 2008, ingressou no curso de Agronomia da UFRGS, onde trabalhou desde o segundo semestre como bolsista de iniciação científica no Departamento de Solos, graduando-se em agosto de 2013. Em março de 2012, ingressou no mestrado do PPG em Ciência do Solo da UFRGS, sob orientação do Prof. Flavio Camargo. Concluiu seu mestrado em fevereiro de 2014, ingressando no doutorado no mês próximo, no mesmo PPG e sob mesma orientação. Em agosto de 2014, ingressou como pesquisador na área de solos na Estação Experimental do Arroz do IRGA, Cachoeirinha-RS.