

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

**RESPOSTA DO SOLO E DAS CULTURAS AGRÍCOLAS À ADUBAÇÃO EM
SISTEMAS INTEGRADOS DE PRODUÇÃO AGROPECUÁRIA EM TERRAS
BAIXAS**

**Luiz Gustavo de Oliveira Denardin
(Tese de Doutorado)**

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

**RESPOSTA DO SOLO E DAS CULTURAS AGRÍCOLAS À ADUBAÇÃO EM
SISTEMAS INTEGRADOS DE PRODUÇÃO AGROPECUÁRIA EM TERRAS
BAIXAS**

LUIZ GUSTAVO DE OLIVEIRA DENARDIN
Engenheiro Agrônomo (UFRGS)
Mestre em Ciência do Solo (UFRGS)

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

Porto Alegre (RS) Brasil
Maio de 2021

CIP - Catalogação na Publicação

Denardin, Luiz Gustavo de Oliveira
Resposta do solo e das culturas agrícolas à
adubação em sistemas integrados de produção
agropecuária em terras baixas / Luiz Gustavo de
Oliveira Denardin. -- 2021.
139 f.
Orientador: Ibanor Anghinoni.

Coorientadora: Amanda Posselt Martins.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio
Grande do Sul, Faculdade de Agronomia, Programa de
Pós-Graduação em Ciência do Solo, Porto Alegre, BR-RS,
2021.

1. integração lavoura-pecuária. 2. arroz irrigado.
3. soja. 4. adubação mineral. 5. fertilidade do solo.
I. Anghinoni, Ibanor, orient. II. Martins, Amanda
Posselt, coorient. III. Titulo.

LUIZ GUSTAVO DE OLIVEIRA DENARDIN
Engenheiro Agrônomo - UFRGS
Mestre em Ciência do Solo - UFRGS

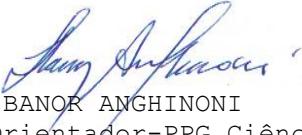
TESE

Submetida como parte dos requisitos
para obtenção do Grau de

DOUTOR EM CIÊNCIA DO SOLO

Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo
Faculdade de Agronomia
Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Porto Alegre (RS) Brasil

Aprovado em: 04/05/2021
Pela Banca Examinadora


IBANOR ANGHINONI
Orientador-PPG Ciência do Solo

Homologado em: 28/07/2021
Por

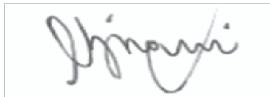


ALBERTO VASCONCELLOS INDA JUNIOR
Coordenador do
Programa de Pós-Graduação em
Ciência do Solo


AMANDA POSSELT MARTINS
Coorientadora
PPG Ciência do Solo/UFRGS

ENILSON LUIZ SACCOL DE SÁ
PPG Ciência do Solo - UFRGS
(Plataforma MConf UFRGS)

EDICARLOS DAMACENA DE SOUZA
Universidade Federal de Rondonópolis
(Plataforma MConf UFRGS)



JOSE ALFREDO TERRA
INIA/Treinta y Tres, Uruguay
(Plataforma MConf UFRGS)

CARLOS ALBERTO BISSANI
Diretor da Faculdade
de Agronomia

***“A grandeza não consiste
em receber honras, mas em merecê-las”***
(Aristóteles)

*Aos meus pais, Vera Lúcia e Luiz Artur,
que me ensinaram os verdadeiros valores da vida,
e sempre estiveram presentes me apoiando em todas as etapas
dessa caminhada, dedico este trabalho.*

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me dado saúde e força para superar todas as dificuldades.

À minha mãe (Vera), heroína e sem dúvida a pessoa mais importante na minha vida; ao meu pai (Luiz) e irmãos (Alessandra e Rafael), pela formação, carinho e apoio incondicional em todas minhas decisões.

À UFRGS e à Faculdade de Agronomia, por proporcionar um ensino de qualidade e excelência; e ao PPGCS, pela oportunidade em realizar esse estudo.

Ao professor Ibanor Anghinoni, pela orientação durante o período de graduação e pós-graduação, sendo sem dúvida o principal responsável pelo estímulo à minha continuação na carreira acadêmica.

À Amanda Martins, minha co-orientadora, que, além de amiga/irmã, foi sem dúvida uma das pessoas mais importantes para mim durante o doutorado.

Ao professor Paulo Carvalho, pela amizade, apoio incondicional, conselhos e parceria ao longo de todos esses anos, também pela oportunidade de realização do meu segundo doutorado sanduíche, na França.

Aos meus supervisores dos doutorados sanduíches realizados na França (Dr. Abad Chabbi) e nos Estados Unidos da América (Dr. Sandeep Kumar), por todo acolhimento, troca de experiências e ensinamentos transmitidos nesses períodos, que foram um dos mais importantes do doutorado.

Aos membros da Comissão Examinadora, Edicarlos Damacena, Enilson de Sá e José Terra, pelas preciosas colaborações neste trabalho, troca de ideias, conversas e pelo exemplo de profissionais que sempre foram e seguirão sendo para mim.

A meus irmãos de coração, Carla Muller, Dionata Filippi, João Pedro Flores, Lucas Aquino Alves, Murilo Veloso e Rafael Ramon, pela amizade mais pura e verdadeira, pelos ensinamentos, e por todos os momentos compartilhados, tornando a vida mais leve.

Aos meus amigos, Adão Luis, Adriano Garcia, Alex Ferreira, Cícero Ortigara, Cláudia Barros, Felipe Bertol, Gabriela Naibo, Jeniffer Valer, Joana Schroeder, Lóren Duarte, Lucas Telles, Luciano Pinzon, Marcelo Ely, Mateus Goulart, Tales

Tiecher e Thamires Valle, pela inestimável e fundamental ajuda nos trabalhos, além do companheirismo e amizade, cuja lembrança levarei comigo para a vida.

Em especial ao Marcelo Schmidt, ao Tiago Stumpf, à Victoria Dutra e ao Vitor Ambrosini.

À Fazenda Corticeiras, por ceder a área e auxiliar na condução do experimento.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento e Tecnológico (CNPq), à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e à Fundação Agrisus pelo financiamento de bolsas de estudo e de projetos de pesquisa que deram suporte para a realização deste trabalho.

RESPOSTA DO SOLO E DAS CULTURAS AGRÍCOLAS À ADUBAÇÃO EM SISTEMAS INTEGRADOS DE PRODUÇÃO AGROPECUÁRIA EM TERRAS BAIXAS¹

Autor: Engº. Agrº. Me. Luiz Gustavo de Oliveira Denardin

Orientador: Prof. Ph.D. Ibanor Anghinoni

Co-orientadora: Profª. Amanda Posselt Martins

RESUMO

Os sistemas integrados de produção agropecuária (SIPA) aparecem como alternativa de grande potencial para promover a sustentabilidade técnica, econômica, social e ambiental das terras baixas brasileiras. Além de melhorar a fertilidade do solo, são sistemas capazes de aumentar a eficiência de uso dos nutrientes, garantindo altas produtividades de cultivos de grãos. No entanto, ainda é pouco conhecida a resposta do solo e dos cultivos agrícolas à adubação com os principais macronutrientes (nitrogênio – N, fósforo – P e potássio – K) em diferentes arranjos de SIPA em terras baixas. Nesse contexto, o objetivo desta pesquisa foi verificar o impacto da adubação com N, P e K, no rendimento do arroz irrigado e da soja, na abundância e na composição da comunidade microbiana e no seu efeito sobre a disponibilidade de N no solo, em diferentes arranjos de SIPA em terras baixas no subtropical brasileiro. Para isso, utilizou-se um experimento iniciado em 2013, localizado na Planície Costeira Interna do Rio Grande do Sul (RS). Dois SIPA foram avaliados em comparação com o sistema de cultivo tradicional do RS, baseado no revolvimento do solo, monocultivo de arroz e pousio hibernal. Os SIPA foram caracterizados pelo cultivo de azevém no inverno em pastejo e monocultivo do arroz ou rotação soja-arroz no verão, sob plantio direto. Nas safras agrícolas 2015/2016, 2017/2018 e 2018/2019, verificou-se que, sob SIPA, o arroz irrigado e a soja não respondem à adubação fosfatada e potássica no seu cultivo, podendo a adubação de reposição desses nutrientes ser transferida para a fase pastagem do SIPA, potencializando ganhos de forragem e ganho animal. Em contrapartida, avaliações realizadas na safra 2018/2019 demonstraram que a adubação mineral com P e K tem uma importância fundamental no solo sob cultivo de arroz irrigado em SIPA, aumentando grupos microbianos específicos, levando a um acréscimo no conteúdo de carbono (C) e N na biomassa microbiana, no entanto sem afetar o rendimento de grãos de arroz. Por sua vez, o N é um nutriente limitante para obtenção de altas produtividades de arroz, independentemente do sistema de produção. Apesar disso, foi possível identificar uma maior eficiência do uso do N pelo arroz sob SIPA. Um possível ‘efeito priming’ encontrado nos SIPA enfatiza a importância da adubação nitrogenada, não apenas atuando diretamente na nutrição do arroz, mas também indiretamente atuando como um catalisador, aumentando a atividade microbiana e a disponibilidade de N imobilizado na biomassa microbiana.

Palavras-chave: arroz irrigado; soja; fertilidade do solo; plantio direto.

¹ 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 (124 p.). Maio, 2021. Trabalho realizado com apoio financeiro do CNPq e da CAPES.

SOIL AND CROP RESPONSE TO FERTILIZATION IN INTEGRATED CROP-LIVESTOCK SYSTEMS IN LOWLANDS¹

Author: Luiz Gustavo de Oliveira Denardin

Adviser: Prof. Ibanor Anghinoni

Co-adviser: Prof^a. Amanda Posselt Martins

ABSTRACT

Integrated crop-livestock systems (ICLS) appear as an alternative with great potential to promote technical, economic, social, and environmental sustainability of the Brazilian lowlands. Besides improving soil fertility, they are systems capable of increasing the nutrient use efficiency, ensuring high yield of grain crops. However, the response of soil and crops to mineral fertilization with the main macronutrients (nitrogen - N, phosphorus – P, and potassium - K) in different lowland ICLS arrangements is still not well known. In this context, the objective of this research was to verify the impact of N, P, and K fertilization on flooded rice and soybean yields, on the abundance and composition of microbial biomass (MB), and on its effect on soil N availability in different ICLS arrangements in lowlands in the Brazilian subtropical region. For this, an experiment started in 2013 was used, located in the Internal Coastal Plain of Rio Grande do Sul (RS). Two ICLS were evaluated in comparison with the traditional paddy system in RS, based on soil disturbance, rice monocropping, and winter fallow period. The ICLS were characterized by annual ryegrass pasture under beef cattle grazing during the winter season and rice monocropping or soybean-rice rotation during the summer season under no-till. In the 2015/2016, 2017/2018, and 2018/2019 cropping seasons, it was found that soybean and flooded rice do not respond to P and K fertilization in their cultivation under ICLS, and replacement fertilization of these nutrients can be transferred to the pasture phase of ICLS, potentiating forage and animal gains. In contrast, evaluations carried out in the 2018/2019 cropping season showed that mineral fertilization with P and K has a fundamental importance in flooded rice cultivation under ICLS, increasing specific microbial groups, leading to an increase in carbon (C) and N content in the MB, however without affecting the rice grain yield. On the other hand, N is a limiting nutrient for obtaining high rice yields, regardless of the production system. Nevertheless, it was possible to identify a higher N use efficiency by rice under ICLS. Moreover, a possible ‘priming effect’ found in ICLS emphasizes the importance of N fertilization, not only acting directly on rice nutrition, but also indirectly acting as a catalyst, increasing microbial activity and the availability of immobilized N in the MB.

Keywords: flooded rice; soybean; soil fertility; no-tillage.

¹ 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 (124 p.). May, 2021. Research supported by CNPq and CAPES.

SUMÁRIO

	Pág.
CAPÍTULO I – INTRODUÇÃO GERAL	1
CAPÍTULO II – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
1. O arroz irrigado e o uso das terras baixas do RS.....	4
1.1. Cenário atual da lavoura arrozeira do RS	5
1.2. Aspectos relacionados à adubação de cultivos agrícolas em terras baixas	7
1.3. Manejo tradicional de terras baixas e seu efeito na fertilidade do solo ..	9
2. Manejo conservacionista e diversificação de culturas em terras baixas ...	11
2.1. Adoção do plantio direto em terras baixas.....	11
2.2. Rotação de culturas em terras baixas.....	13
2.3. Sistemas integrados de produção agropecuária em terras baixas	15
3. Fatores reguladores da disponibilidade de nitrogênio para o arroz em terras baixas.....	18
3.1. Matéria orgânica do solo.....	18
3.2. Atividade microbiana e mineralização do nitrogênio em ambientes alagados	19
3.3. Eficiência de uso do nitrogênio pelo arroz irrigado	20
4. Microrganismos do solo como reguladores da disponibilidade de N para o arroz irrigado	23
4.1. Biomassa microbiana do solo em sistemas conservacionistas em terras baixas	23
4.2. Composição da comunidade microbiana em sistemas conservacionistas em terras baixas	25
4.3. Impacto da adubação mineral na comunidade microbiana do solo ..	28
CAPÍTULO III – MATERIAL E MÉTODOS GERAL	31
1. Localização geográfica, clima, solo e histórico da área experimental	31
2. Tratamentos e delineamento experimental	32
3. Condução dos sistemas de produção	34
4. Adubação dos sistemas	34
5. Avaliações do protocolo experimental.....	36
6. Histórico de produção vegetal, animal e atributos químicos do solo	38
CAPÍTULO IV – SOYBEAN YIELD DOES NOT RELY ON MINERAL FERTILIZER IN ROTATION WITH FLOODED RICE UNDER A NO-TILL INTEGRATED CROP-LIVESTOCK SYSTEM¹	42
1. Introduction	42
2. Materials and Methods	44

2.1. Site description and historical characterization of the experimental area	44
2.2. Initial soil fertility characterization and soybean studies.....	46
2.3. Soil and Plant Analyses	47
2.4. Statistical analyses	47
3. Results and Discussion	48
3.1. Soil fertility characterization and soybean yield response to P and K fertilization.....	48
3.2. Relationship between soybean yield and soil chemical properties	50
4. Conclusions.....	55
CAPÍTULO V – FERTILIZATION EFFECTS ON SOIL MICROBIAL COMPOSITION AND NUTRIENT AVAILABILITY IN INTEGRATED RICE-LIVESTOCK PRODUCTION SYSTEMS¹	57
1. Introduction	57
2. Material and Methods	60
2.1. Site description and historical characterization of the experimental area	60
2.2. Phosphorus and potassium fertilization treatments	61
2.3. Soil and plant analyses	62
2.3.1. Soil and plant analyses	62
2.3.2. Labile Carbon and nitrogen pools	64
2.3.3. Plant analysis.....	64
2.4. Statistical analyses	65
3. Results	65
3.1. Soil microbial abundance and community composition.....	65
3.2. Labile carbon and nitrogen pools.....	67
3.3. Relationship between microbial groups and labile N pools	69
3.4. Rice yield and shoot biomass inputs.....	70
4. Discussion	71
5. Conclusions.....	74
CAPÍTULO VI – CAN WE IMPROVE NITROGEN USE EFFICIENCY IN PADDY RICE-BASED CROPPING SYSTEMS BY INTEGRATING LIVESTOCK AND SOYBEAN ROTATION?	76
1. Introduction	76
2. Material and Methods	78
2.1. Site description and historical characterization of the experimental area	78
2.2. Treatment description and experimental design	78
2.3. Field experiment	80
2.4. Greenhouse experiment	81
2.4.1. Soil sampling	81

2.4.2. Experimental procedure and analysis	82
2.5. Statistical analyses	84
3. Results	84
3.1. Field experiment	85
3.2. Greenhouse experiment	87
4. Discussion	90
5. Conclusions.....	93
CAPÍTULO VII – CONCLUSÕES GERAIS	95
CAPÍTULO VIII – PERSPECTIVAS FUTURAS DE PESQUISA	97

RELAÇÃO DE TABELAS

	Pág.
Tabela 1. Detalhamento das adubações realizadas nos SIPA nos anos de 2013 a 2019.....	35
Tabela 2. Evolução de atributos químicos em duas camadas de solo em três sistemas de produção agrícola.	41
Table 3. Soil fertility variables (0–10 and 10–20 cm layer), for October 2015, in a soybean-flooded rice rotation under no-till integrated crop–livestock system in paddy fields of a Brazilian subtropical region.....	49
Table 4. Soil microbial community composition with (P + K) or without (control) phosphate (P) and potassium (K) fertilization in rice cropping season depending on integrated crop-livestock systems (ICLS) in Brazilian subtropics	66
Table 5. Flooded rice shoot dry matter, nitrogen accumulation in shoot dry matter, grain yield, and nitrogen utilization efficiency affected by nitrogen fertilization in different production systems in Brazilian subtropics	85
Table 6. Nitrogen (N) content, shoot dry matter (DM), N accumulation in shoot DM, and number of tillers of flooded rice sampled on vegetative stage, and N content and shoot DM of flooded rice sampled on reproductive stage, under N fertilization with ^{15}N -labelled fertilizer, in different production systems in an experiment carried out in greenhouse in Brazilian subtropics	88

RELAÇÃO DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Frequência de valores baixos ($\leq 2,5\%$) de matéria orgânica (MO) em levantamento realizado com mais de 44 mil amostras de solos analisadas pelo Laboratório de Análise do Solos do IRGA, em dois períodos de avaliação nas diferentes regiões arrozeiras do RS.....	11
Figura 2. Modelo conceitual dos fluxos e efeitos diretos e indiretos da adubação mineral nitrogenada e da adoção de sistemas integrados de produção agropecuária (SIPA) na comunidade microbiana de solos agrícolas.....	29
Figura 3. Croqui do protocolo experimental SIPA terras baixas, englobando os cinco sistemas adotados, inseridos nos três distintos blocos casualizados, com as respectivas áreas de cada parcela, no município de Cristal/RS.	32
Figura 4. Biomassa residual de arroz, soja e forragem aportados ao final de cada ciclo de verão e inverno dos três sistemas de produção, desde o inverno de 2013 até a safra 2018/2019.....	38
Figura 5. Produção de carne no período hibernal de 2013 a 2018 nos Sistemas 2 e 3 do experimento em estudo, sob adubação tradicional (2013 a 2016) e adubação de sistemas (2017 e 2018).....	39
Figura 6. Produtividade de grãos de arroz e soja nos três sistemas de produção desde a safra 2013/2014 até a safra 2018/2019, sob adubação tradicional (no cultivo de grãos e na pastagem), ou adubação de sistema (somente na pastagem nos Sistemas 2 e 3 e no arroz do Sistema 1).	40
Figure 7. Monthly average precipitation and temperature (from August 2015 to July 2016 and from August 2017 to July 2018) in Cristal County/RS State, site of the experimental area of ICLS in southern Brazil.....	44
Figure 8. Soybean yield affected by different P and K rates in an ICLS in the Brazilian subtropical region, during the 2015/2016 cropping season.....	50
Figure 9. Relationship between soybean grain yield and available phosphorus (P) in 0–10 and 10–20 cm soil layers, in an ICLS in the Brazilian subtropical region, during the 2017/2018 cropping season.....	51
Figure 10. Relationship between soybean grain yield and available potassium (K) in 0–10 and 10–20 cm soil layers, in an ICLS in the Brazilian subtropical region, during the 2017/2018 cropping season.....	52
Figure 11. Relationship between soybean grain yield and (a) soil pH and (b) soil organic matter (SOM) content in 0–10 and 10–20 cm soil layers, in an ICLS in the Brazilian subtropical region, during the 2017/2018 cropping season.....	53
Figure 12. Extraction of total soil lipids in apolar phase (A), with subsequent isolation of phospholipids using silicic acid chromatography columns (B), with their concentration after solvent evaporation in N-EVAP (C) and final phase after saponification and methylation (D), prior to evaluation in mass spectrometer. .	63
Figure 13. Microbial biomass carbon (MBC) (A), nitrogen (MBN) (B) and C / N ratio of microbial biomass (C) with (P + K) or without (control) phosphate (P) and potassium (K) fertilization, in the ICLS-Rice and ICLS-Rice/soybean systems in the 2018/2019 rice cropping season in Brazilian subtropics.	68

Figure 14. Potassium permanganate oxidizable carbon (POxC) (A) and soil alkaline hydrolyzable nitrogen (AH-N) (B) with (P + K) or without (control) phosphate (P) and potassium (K) fertilization in the ICLS-Rice and ICLS-Rice/soybean systems in the 2018/2019 rice cropping season in Brazilian subtropics.....	68
Figure 15. Relationship between Microbial Biomass Nitrogen (MBN) and (a) Gram-positive bacteria (gram+), (b) Gram-negative bacteria (gram-), (c) Actinomycetes (Actin), (d) Fungi, and (e) Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF), in different integrated crop-livestock systems in Brazilian subtropics	69
Figure 16. Relationship between soil alkaline hydrolyzable nitrogen (AH-N) and (a) Gram-positive bacteria (gram+), (b) Gram-negative bacteria (gram-), (c) Actinomycetes (Actin), (d) Fungi, and (e) Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF), in the ICLS-Rice and ICLS-Rice/soybean systems in the 2018/2019 rice cropping season in Brazilian subtropics.....	70
Figure 17. Flooded rice yield (A) with (P + K) or without (control) phosphate (P) and potassium (K) fertilization on average of the 2016/2017 and 2018/2019 rice cropping seasons and annually average shoot biomass input (B) in summer and winter (net primary production of forage) seasons in the ICLS-Rice and ICLS-Rice/soybean systems from the 2013/2014 to 2018/2019 cropping seasons in Brazilian subtropics.....	71
Figure 18. Collection of undisturbed samples with PVC tubes in the traditional rice system (A), and integrated crop-livestock system (B), prior to rice sowing (October 2018), to conduct the greenhouse experiment using ¹⁵ N-labelled fertilizer	82
Figure 19. Nitrogen fertilization with ¹⁵ N-labelled fertilizer (A) and subsequent soil flooding simulating flooded rice cultivation (B), maintaining a water blade of 5 cm above the soil surface, in a greenhouse experiment.....	83
Figure 20. Agronomic efficiency (A) and apparent recovery efficiency (B) of nitrogen fertilizer by flooded rice affected by different production systems in Brazilian subtropics.....	87
Figure 21. Height of flooded rice before and 21 days after nitrogen (N) fertilization, affected by different production systems in Brazilian subtropics....	88
Figure 22. Nitrogen (N) derived (A) and recovery (B) from fertilizer on flooded rice affected by different production systems in Brazilian subtropics	89
Figure 23. Nitrogen (N) accumulation in shoot DM (A) and number of panicles (B) of flooded rice sampled after physiological maturity, affected by different production systems in Brazilian subtropics	90

CAPÍTULO I – INTRODUÇÃO GERAL

Os solos de terras baixas representam de 4 a 6% da superfície terrestre, ocupando 7 a 9 milhões de km² (Lefeuvre e Bouchard, 2002). Eles são caracterizados pela grande susceptibilidade ao alagamento, apresentando excesso hídrico na superfície em pelo menos durante uma estação de crescimento de culturas anuais (Brinkman e Blokhuis, 1986). No Brasil, grande parte desses solos são encontrados na região Sul, principalmente sob cultivo do arroz (*Oryza sativa L.*) irrigado (Miura et al., 2015). O Brasil é o maior produtor de arroz das Américas e apresenta a nona maior produção do mundo, gerando aproximadamente 12 milhões de toneladas por ano desse cereal (CONAB, 2020).

Os solos utilizados para o cultivo do arroz apresentam predominantemente textura franco-arenosa (menos que 20% de argila) e baixa fertilidade, representada por baixos teores de matéria orgânica (MO) e de P e K disponíveis (Anghinoni et al., 2004; Boeni et al., 2010). O sistema de cultivo do arroz predominante no Rio Grande do Sul (RS) é embasado no seu monocultivo e no intenso e frequente revolvimento do solo, fazendo com que ocorra expressiva diminuição dos nutrientes disponíveis no solo (Schoenfeld et al., 2012). Assim, os cultivos agrícolas nas terras baixas do RS, como o arroz irrigado e a soja (*Glycine max (L.) Merrill*), apresentam grande dependência do uso de fertilizantes.

Sistemas tradicionais como esses têm sido avaliados em diversos continentes e têm demonstrado perdas na qualidade do solo, envolvendo tanto atributos químicos (El-Shahway et al., 2016), quanto físicos (Tran Ba et al., 2016) e biológicos (Martins et al., 2017). Nesse contexto, são necessárias práticas de

manejo conservacionista do solo, para garantir maior sustentabilidade econômica e ambiental das terras baixas do RS.

Como possível alternativa ao sistema de cultivo utilizado atualmente nos solos arrozeiros, tem-se os Sistemas Integrados de Produção Agropecuária (SIPA), os quais propõem a rotação entre o cultivo de grãos e pastagens, sob os preceitos do mínimo revolvimento do solo (semeadura direta ou plantio direto), da rotação de culturas e da inserção do componente animal no sistema agrícola (Castoldi et al., 2019; Carlos et al., 2020; Denardin et al., 2020).

Esses sistemas se diferenciam dos tradicionais, somente agrícolas, por contarem com o componente animal, atuando como catalisador dos processos, modificando e acelerando o fluxo dos nutrientes pela ingestão da biomassa vegetal.

Cerca de 70-95% dos nutrientes ingeridos no pastejo retornam para o solo através da deposição da excreta dos animais (Whitehead, 2000). Essa pequena exportação de nutrientes na carcaça faz com que, a partir do uso de pastagens bem adubadas, rapidamente se aumente a fertilidade química do solo, garantindo-se altos teores de macronutrientes disponíveis, como o P e o K, mesmo em ambientes de terras baixas sob cultivo do arroz irrigado (Denardin et al., 2020). Dessa forma, a ciclagem de nutrientes é um fator chave e de grande importância nesses sistemas de produção.

A deposição de dejetos (fezes e urina) pelos animais em pastejo exerce uma forte influência na disponibilidade de nutrientes (Carlos et al., 2020). Isso decorre principalmente da presença de diferentes fontes de nutrientes em decomposição, sendo elas de resíduos vegetais e resíduos animais. Aliado a isso, esse estímulo proporciona modificações na atividade e nas comunidades microbianas do solo (Sarto et al., 2020), tendo como resultado a melhoria na disponibilidade de nutrientes no solo (Geisseler et al., 2017).

Estudos como os de Cotrufo et al. (2013; 2015) têm mostrado que resíduos lábeis e com maiores conteúdos de N proporcionam aumentos na biomassa microbiana do solo. Nesse sentido, os diferentes arranjos de SIPA, que contam com apporte de resíduos lábeis e com altos conteúdos de N (e.g. soja, pastagens bem manejadas e dejetos animais), podem potencializar esses acúmulos. Assim, a adoção de SIPA nesses ambientes, aliado à rotação de culturas com leguminosas, pode potencializar a disponibilidade de nutrientes

para as culturas de grãos em sucessão. Dessa forma, o objetivo desta pesquisa foi verificar o impacto da adubação nitrogenada, fosfatada e potássica, no rendimento do arroz irrigado e da soja, na abundância e na composição da comunidade microbiana e no seu efeito sobre a disponibilidade de N no solo e a eficiência de uso do N pelo arroz, em diferentes arranjos de SIPA conduzidos em plantio direto em terras baixas no subtrópico brasileiro.

CAPÍTULO II – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1. O arroz irrigado e o uso das terras baixas do RS

Os solos de terras baixas representam de 4 a 6% da superfície terrestre, ocupando uma área de 7 a 9 milhões de km² (Lefevre e Bouchard, 2002). Esses solos são caracterizados pela grande susceptibilidade ao alagamento, possuindo excesso hídrico na superfície em pelo menos uma estação de crescimento de culturas anuais no ano (Brinkman e Blokhuis, 1986). Aproximadamente 130 milhões de ha, constituindo cerca de 10% das terras agricultáveis, são temporariamente alagadas ou umedecidas para produção de arroz no mundo (Ponnamperuma, 1977). No Brasil, grande parte desses solos são encontrados na região Sul e são caracterizados por estarem em até 150 metros de altitude, apresentarem até 3% de declividade e normalmente receberem o cultivo do arroz irrigado (Miura et al., 2015).

No RS, que apresenta mais de 65% da produção de arroz do Brasil, os solos de terras baixas estão presentes nas planícies de rios e lagoas e representam cerca de 20% da área total do Estado (Pinto et al., 2004). As terras baixas abrangem aproximadamente 5,4 milhões de hectares do RS, dos quais 3,0 milhões têm potencial para receber o cultivo do arroz irrigado. Entretanto, apenas um terço dessa área é cultivada anualmente devido, principalmente, à disponibilidade de água, que é limitada para seu cultivo (Pinto et al., 2004; SOSBAI, 2018).

A partir do início da década de 1990 ocorreram importantes mudanças no manejo do sistema produtivo do arroz no RS. A utilização das

entaipadoras de base larga, acompanhadas do surgimento de semeadoras articuladas, foram decisivas para a garantia de avanços no sistema produtivo, permitindo a realização da semeadura do arroz sobre taipas. Isso proporcionou, além de ganhos de área aproveitada para o cultivo, menores perdas em sementes e fertilizantes, propiciando condições para se dobrar a produtividade rapidamente. Esses eventos deram subsídio para a mudança do sistema de cultivo, passando de um sistema convencional de preparo do solo para um sistema de *cultivo mínimo*, permitindo a antecipação do preparo do solo e facilitando a semeadura no período ideal, com um melhor aproveitamento de mão de obra e maquinários (Gomes et al., 2004; Menezes et al., 2012).

Na safra 2001/2002, a partir de um trabalho de extensão e pesquisa, em conjunto do IRGA com produtores de arroz, surgiu o *Projeto 10*. Este projeto consistia em estratégias de manejo para o aumento da produtividade, da competitividade e da sustentabilidade da lavoura de arroz no RS (Menezes et al., 2012). O projeto proporcionou um expressivo aumento da produtividade e tinha como prioridades: adequação de época de semeadura, melhoria do estado de fertilidade e de nutrição das plantas, manejo eficiente da água de irrigação, melhor controle de plantas invasoras, escolha correta de cultivares, uso de sementes de qualidade, maior eficiência no manejo de pragas e doenças. A interação desse conjunto de diferentes práticas agronômicas oportunizou o aumento das produtividades, com a média gaúcha de produtividade alcançando atualmente $7,5 \text{ Mg ha}^{-1}$ (IRGA, 2020).

Embora tenham sido alcançados mais altos patamares produtivos de arroz, a sustentabilidade da lavoura arrozeira no RS tem sido questionada pelo manejo realizado. A principal causa se deve à falta de sustentabilidade econômica e ambiental, onde patamares produtivos mais altos têm sido alcançados com custos de produção cada vez maiores (CONAB, 2016; IRGA, 2019).

1.1. Cenário atual da lavoura arrozeira do RS

A sustentabilidade econômica da lavoura arrozeira tem sido intensamente discutida atualmente, sobretudo visando buscar alternativas frente à susceptibilidade da produção aos preços pagos pelo arroz no mercado.

Historicamente, o cultivo do arroz irrigado no RS é representado por uma atividade especializada em sistemas puramente agrícolas, com o predomínio do monocultivo do arroz (SOSBAI, 2018). Embora a produtividade do arroz tenha aumentado expressivamente nos últimos anos (mais de 50% em 20 anos) (IRGA, 2019), os custos de produção também acompanham esse crescimento (CONAB, 2016).

Em um levantamento recente realizado na safra 2018/2019 nas principais regiões arrozeiras do RS, estimou-se um custo total de produção da lavoura de arroz de aproximadamente R\$ 8,9 mil ha⁻¹ (IRGA, 2019). Considerando a produtividade média de 3 anos do RS – 152 sacos ha⁻¹ – o custo médio por saco é de R\$ 58,55 ha⁻¹. Tendo em vista a média do preço pago pelo arroz após a colheita (abril de 2019) (IRGA, 2019), de R\$ 39,32 saco⁻¹, é possível se verificar a grande vulnerabilidade do produtor, o qual necessita de alternativas para diversificação de renda, redução dos custos de produção e da dependência de maiores preços pagos pelo produto.

Dentre as despesas da lavoura arrozeira (custos variáveis de produção), somente o uso de fertilizantes representa aproximadamente 18%. O custo variável com fertilizantes aumentou 87% de 2006 a 2016 (CONAB, 2016). Isto se deve, em parte, pelo aumento no preço dos insumos, mas principalmente pelos incrementos nas quantidades de fertilizantes utilizadas. As práticas de manejo preconizadas no *Projeto 10* foram essenciais para aumentar a eficiência de uso dos nutrientes aplicados no arroz (Menezes et al., 2012), justificando o aumento da quantidade de fertilizantes aplicados, a fim de se atingir altas produtividades de grãos.

O requerimento da planta de arroz por nutrientes está intimamente relacionado com os níveis de produtividade de grãos, que por sua vez são sensíveis ao clima, particularmente à radiação solar e ao fornecimento de outros nutrientes (Kropff et al., 1993). Esses fatores também afetam o padrão e a quantidade de nutrientes absorvidos pelo arroz (Peng et al., 1996). Nesse contexto, uma das premissas do *Projeto 10* foi considerar que a eficiência das práticas agrícolas é resultado da combinação de diversos fatores, e não só de uma prática em si.

No caso do arroz irrigado, a resposta à adubação nitrogenada, por exemplo, é determinada principalmente pela época de semeadura (Freitas et al.,

2008), por coincidir o período reprodutivo da cultura com o período de maior radiação solar. Assim, enquanto anteriormente ao Projeto 10 não se verificava resposta do arroz à adubação nitrogenada, pela realização da semeadura em períodos mais tardios, após a adequação de épocas de semeadura preferenciais identificaram-se significativas respostas à adubação e consequentes incrementos em produtividade (Freitas et al., 2008). Com maiores potenciais de rendimento atingidos e maiores resposta do arroz à adubação, as recomendações de fertilizantes foram incrementadas (até 150 kg N ha⁻¹), gerando um atual sistema de recomendação de adubação que contempla diferentes expectativas de resposta do arroz à adubação (de Média a Muito alta), e considera a inter-relação entre os diversos fatores atuantes sobre essa resposta (SOSBAI, 2018).

1.2. Aspectos relacionados à adubação de cultivos agrícolas em terras baixas

A exigência nutricional do arroz é determinada por diversos fatores, como condições climáticas, tipo de solo, cultivar plantada, produtividade esperada e práticas culturais adotadas (Fageria et al., 2007). O crescimento normal das culturas exige, como essenciais, 14 nutrientes minerais. O N é o nutriente mineral requerido em maiores quantidades para a produção de arroz irrigado (Buresh et al., 1993; Fageria et al., 2007), além de ser um dos nutrientes que mais limitam a produtividade da produção de arroz nos solos de terras baixas do RS (Fageria et al., 1997).

A adubação nitrogenada é uma prática importante para se obter altas produtividades de grãos em terras baixas. Por ser um componente da clorofila, a deficiência de N diminui a taxa fotossintética, devido à redução na síntese e na atividade da enzima responsável pela assimilação de CO₂, a rubisco (Makino et al., 1984). Além disso, a falta de N pode também limitar o crescimento e o desenvolvimento do arroz pela diminuição da eficiência de conversão de energia, devido à maior partição de assimilados para formação de raízes e pela redução da quantidade de radiação solar interceptada, em função do menor desenvolvimento foliar (Gastal et al., 1992). Nesse sentido, com uma menor taxa

fotossintética e crescimento de plantas, a absorção de todos demais nutrientes também é afetada pela deficiência de N.

Por ser esse nutriente de grande impacto no desenvolvimento do arroz, o uso racional da adubação nitrogenada é fundamental, não somente para aumentar a eficiência da sua utilização, mas também para aumentar a produtividade de grãos e diminuir o custo de produção e os riscos de poluição ambiental (Fageria et al., 2007). Além da exigência em grandes quantidades, o arroz necessita que esse nutriente esteja disponível nos principais momentos de demanda, a fim de não limitar a produtividade. O potencial produtivo do arroz é definido por componentes do rendimento, sendo eles: o número de panículas por área, o número de grãos por panícula e o peso de grãos (SOSBAI, 2018). Esses componentes são definidos ao longo de todo o ciclo produtivo da cultura, desde a semeadura até a maturação fisiológica e, por isso, considerando aspectos relacionados à sua nutrição, maiores produtividades são obtidas com adequada disponibilidade de N acompanhando todo o seu ciclo de desenvolvimento do arroz (Larcher, 2000).

Como tentativa de contemplar os principais componentes de rendimento, as recomendações técnicas para a cultura do arroz (SOSBAI, 2018) sugerem adubações parceladas de N, fornecendo 2/3 da adubação nitrogenada de cobertura no estádio V₃ e 1/3 no R₁, contemplando o perfilhamento e a diferenciação da panícula, respectivamente (Counce et al., 2000), para cultivares de ciclo curto e médio. O uso racional do N envolve não somente a forma de aplicação, mas também as doses fornecidas (Fageria et al., 2007). Para cada tonelada de grãos de arroz produzida, são exportados de 15 a 17 kg de N (Mae, 1997). No entanto, em condições favoráveis, o arroz pode absorver maiores quantidades de N do que o necessário, promovendo um consumo de luxo. Esse processo ocorre quando o arroz continua a absorver nutrientes durante o período reprodutivo, sem responder em termos de crescimento ou produtividade (Dobermann et al., 1996; Zou et al., 2002; Burgos et al., 2006).

As recomendações de adubação para a cultura do arroz irrigado no RS sofreram grandes modificações ao longo do tempo. Inicialmente (em 2004) as recomendações eram para diferentes expectativas de produtividade (SOSBAI, 2005), na sequência (em 2007) passando para diferentes expectativas

de incremento de produtividade (SOSBAI, 2007) e, a partir de 2010, para diferentes expectativas de resposta à adubação (SOSBAI, 2018).

Isso significa que, diferentemente do sistema de recomendação de adubação para os cultivos de sequeiro, que contam com uma filosofia que visa a construção da fertilidade do solo, a partir do manejo da adubação corretiva, de manutenção e de reposição de nutrientes (SBCS, 2016), o sistema de recomendação para o arroz irrigado visa somente a adubação conforme a expectativa de resposta da planta em produtividade (SOSBAI, 2018). Segundo Schoenfeld et al. (2012), mesmo com o fornecimento recomendado de nutrientes para uma alta expectativa de resposta do arroz durante oito anos, os sistemas tradicionais de cultivo do RS geram um balanço negativo de nutrientes do solo, e não estão sendo capazes de melhorar a sua fertilidade. Isso demonstra que tais sistemas de manejo não contam com uma retroalimentação e não se sustentam ao longo do tempo, acarretando perdas consideráveis de nutrientes, diminuição da fertilidade do solo e potencialização da dependência do uso de fertilizantes pelos produtores.

1.3. Manejo tradicional de terras baixas e seu efeito na fertilidade do solo

Os sistemas tradicionais de cultivo do arroz no RS sempre tiveram como princípio o preparo do solo. Desta forma, independentemente do sistema de cultivo (convencional, mínimo ou pré-germinado), sempre se preconizou o frequente e intenso revolvimento do solo, em busca de se cultivar o arroz em uma área com solo o mais homogêneo possível. O cultivo mínimo, caracterizado pela redução de práticas mobilizadoras do solo, é atualmente o sistema mais utilizado, estando presente em 65% da área cultivada. Ele se caracteriza pela realização do preparo antecipado (no outono) do solo, viabilizando a semeadura na época preferencial de cultivo. No entanto, mesmo nesse sistema, ainda há o revolvimento do solo após a colheita, com finalidade de incorporar a palha, a fim de acelerar o processo de decomposição e deixar o solo com maior homogeneidade física (SOSBAI, 2018).

A mobilização do solo acarreta o rompimento de macroagregados, resultando em maior oxidação do carbono (C) (Six, 1999; 2000). Em decorrência

disso, o revolvimento tem sido a principal causa dos aumentos nos níveis de degradação do solo (Lal, 2015). Estudos de longo prazo avaliando sistemas convencionais de cultivo intensivo de arroz irrigado, como os de Cassman et al. (1995) e Flinn e De Datta (1984), têm demonstrado maior degradação física do solo, diminuição do pH e da capacidade de troca de cátions (CTC) e menor eficiência do uso de nutrientes ao longo do tempo. Essas condições levam à redução dos níveis de fertilidade do solo, deteriorando propriedades e características químicas e físicas do solo e, consequentemente, levando ao declínio da produtividade de grãos, causando preocupações referentes à sustentabilidade do sistema produtivo do arroz (Cheng et al., 2007; Joshi et al., 2007).

A incorporação da palha do arroz favorece a decomposição dos resíduos (Sá et al., 2013). Embora a expressiva quantidade residual de matéria seca (MS) do arroz apresente bom potencial para aumentar os teores de MO do solo, o seu revolvimento afeta diretamente aumentando a taxa anual de perda do C orgânico do solo (Bayer et al., 2006). Essa prática é ainda mais prejudicial em solos arenosos, com menores teores de argila, a qual atua diretamente na proteção física da MO através das interações organo-minerais (Bayer et al., 2006; Sá et al., 2013).

Os solos arrozeiros do RS apresentam predominantemente textura arenosa. A Zona Sul e as Planícies Costeiras Externa e Interna apresentam a maior frequência (96, 94 e 92%, respectivamente) de solos com teor de argila inferior a 25% (Boeni et al., 2010). No mesmo sentido, um levantamento realizado com mais de 44 mil amostras de solo coletadas nas diferentes Regiões Arrozeiras do RS demonstra que essas regiões, juntamente com a Região Central, são as que apresentam menor teor de MO do solo, com 80 a 90% das áreas apresentando teor baixo de MO, igual ou inferior a 2,5% (Figura 1). As demais regiões orizícolas – Campanha e Fronteira Oeste – embora apresentem teores superiores de MO, causam preocupação em função da diminuição da sua fertilidade ao longo do tempo. O levantamento demonstra um aumento significativo desses solos com teor de MO inferior a 2,5% nessas regiões. Enquanto que as regiões da Fronteira Oeste e Campanha, de 2009 a 2012, apresentavam respectivamente 62 e 56% dos solos com MO nessa faixa ($\leq 2,5\%$), de 2012 a 2016 houve um aumento de 7 e 17% dos solos com teores

baixos de MO nessas regiões (Figura 1). Dessa forma, pelos baixos teores de MO nesses solos a atividade microbiológica, a CTC e a disponibilidade de nutrientes, principalmente N, também devem ser baixas (Beutler et al., 2014).

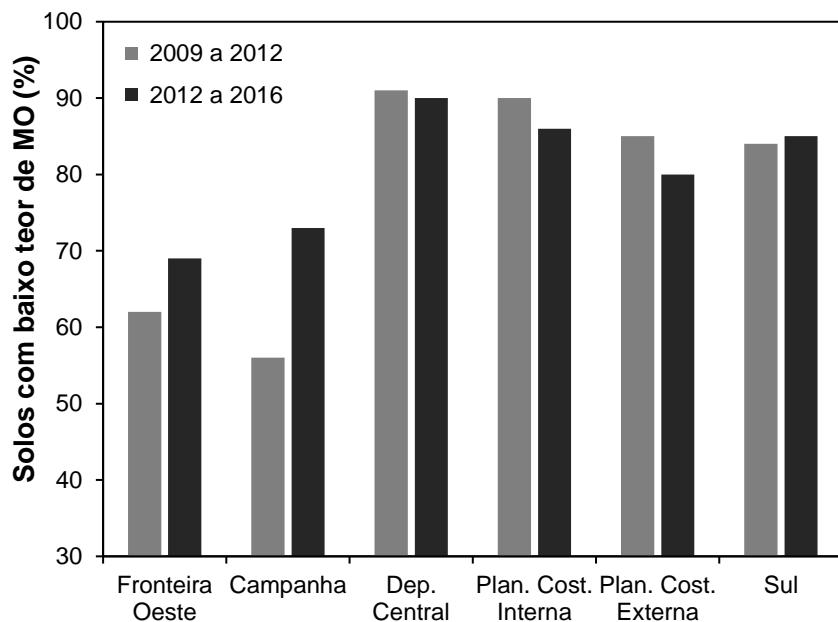


Figura 1. Frequência de valores baixos ($\leq 2,5\%$) de matéria orgânica (MO) em levantamento realizado com mais de 44 mil amostras de solos analisadas pelo Laboratório de Análise do Solos do IRGA, em dois períodos de avaliação nas diferentes regiões arrozeiras do RS. Fonte: Laboratório de Análise do Solo do IRGA.

2. Manejo conservacionista e diversificação de culturas em terras baixas

2.1. Adoção do plantio direto em terras baixas

O plantio direto é considerado um dos principais requisitos para adoção de sistemas conservacionistas. No entanto, essa prática ainda é pouco adotada pelos produtores de arroz em terras baixas, devido a algumas limitações. A colheita de grãos com o solo úmido é um dos limitantes para implementação desse sistema, pois é dependente das condições meteorológicas, principalmente em anos de ocorrência do fenômeno *El Niño*, onde as constantes precipitações pluviométricas, concomitantes à chegada da maturidade dos grãos, obrigam a realização da colheita mesmo com o solo em condições desfavoráveis. A colheita mecanizada nessas condições ocasiona

formação de rastros e deformações no solo, impedindo a eficiência da semeadura e estabelecimento do próximo cultivo (Carmona et al., 2018).

No entanto, a adoção do plantio direto tem demonstrado importantes benefícios para o sistema produtivo do arroz, como a diminuição do uso de água e a maior facilidade de controle de plantas invasoras (Kumar e Ladha, 2011). Em adição, esse sistema tem sido adotado principalmente para auxiliar na redução do custo de produção do arroz, devido à redução no número de operações agrícolas, sobretudo na estação chuvosa, a qual coincide com a época de semeadura recomendada (Bayer et al., 2014; SOSBAI, 2018) e ainda podendo melhorar a qualidade do solo. Embora escassos, alguns estudos demonstram benefícios do plantio direto em atributos do solo em ambientes de terras baixas, como na obtenção de maiores teores de MO e nutrientes na camada superficial do solo (Lal, 1986; Sahrawat, 2005; Feng et al., 2006; Tang et al., 2007; Sahrawat, 2012; Beutler et al., 2014; Denardin et al., 2019).

Além de modificações em atributos químicos, estudos também têm demonstrado alterações em atributos microbiológicos do solo. Os atributos microbiológicos do solo são potenciais indicadores de mudanças em sua qualidade, pois são mais sensíveis do que os atributos químicos e físicos do solo (Bending et al., 2004; Miller e Dick, 2005; Peixoto et al., 2010). Em sistemas com maior diversidade de espécies de plantas (Gao et al., 2004) e presença de animais em pastejo sob SIPA (Martins et al., 2017), conduzidos em plantio direto, tem-se observado maior atividade microbiana e enzimática.

Em relação às características físicas, a compactação frequentemente é alvo de estudos e pesquisas por influenciar diretamente o crescimento radicular e, consequentemente, a produtividade dos cultivos (Derpsch, 2003). Enquanto alguns estudos (Zhuang et al., 1999; Iijima et al., 2005) mostram aumento da densidade do solo após a adoção do plantio direto em terras baixas, outros (Feng et al., 2006; Denardin et al., 2019) demonstram uma diminuição da densidade a partir da adoção desses sistemas. No entanto, esse tipo de característica se torna pouco importante sob condições de alagamento do solo, pelo rompimento dos agregados e estrutura fluida ocorrente no solo alagado (Ambassa-Kiki et al., 1996; Beutler et al., 2012).

Embora a adoção do plantio direto em terras baixas proporcione melhorias na qualidade do solo, Huang et al. (2015) demonstram, por meio de

uma meta-análise, que somente a adoção dessa prática não garante incrementos em produtividade na cultura do arroz. Entretanto, o referido manejo gera um importante efeito nos componentes de rendimento do arroz, havendo uma redução na quantidade de panículas produzidas por área em plantio direto, compensada pelo aumento do número de grãos por panícula e maior peso de grãos. No entanto, em condições meteorológicas desfavoráveis (maior nebulosidade e frio), o arroz em sistema convencional apresenta menor produtividade, por reduzir o perfilhamento e, consequentemente, o número de panículas por área (Huang et al., 2015).

Em estudo de longo prazo (Denardin et al., 2019) realizado no Brasil, embora tenham sido observadas melhorias na qualidade do solo, oriunda principalmente de aumentos representativos no teor de MO do solo em plantio direto em relação ao sistema convencional de cultivo (arroz – pousio, com revolvimento do solo), a produtividade do arroz em plantio direto somente superou o sistema de preparo convencional após 14 anos de sua adoção. Esse efeito ocorre porque o não revolvimento do solo proporciona acúmulo de resíduos do arroz de baixa qualidade (alta relação C/N) na superfície do solo, podendo resultar em maior imobilização de N pela biomassa microbiana (Thuy et al., 2008; Xu et al., 2010). Nesse contexto, Denardin et al. (2019) sugerem que o uso de gramíneas com adequado suprimento de N via adubação, ou uso de leguminosas tanto na estação hibernal (Saibro e Silva, 1999), quanto em rotação na estação estival, podem aumentar os teores de MO do solo, reduzindo os efeitos da imobilização temporária de N e garantindo altas produtividades de arroz em plantio direto, já no curto prazo.

2.2. Rotação de culturas em terras baixas

A adoção de práticas conservacionistas de manejo exige, além do plantio direto, o aporte de resíduos para a devida manutenção da MO do solo (Bayer et al., 2000). Para isso, na região subtropical brasileira, o aporte anual de C requerido é de $4,4 \text{ Mg ha}^{-1}$ (Mielniczuk et al., 2003), o que representaria aproximadamente $9,7 \text{ Mg ha}^{-1}$ de MS de resíduo. Com os atuais índices produtivos dos cultivos em terras baixas, tais valores podem ser alcançados apenas com o resíduo do cultivo da lavoura de arroz. Considerando um índice

de colheita de 0,50 e a produtividade do arroz alcançando 10 Mg ha⁻¹ de grãos obtém-se também 10 Mg ha⁻¹ ano⁻¹ de MS da parte aérea, sem considerar a contribuição de raízes e exudatos radiculares. No entanto, como visto anteriormente, o arroz apresenta um resíduo de difícil decomposição, pelos altos teores de silício e alta relação C / N. A partir disso, faz-se necessário a realização da rotação de culturas no sistema produtivo, diversificando a qualidade de resíduos aportadas ao solo e, assim, promovendo benefícios sobretudo mediados pela biota edáfica.

A rotação de culturas é um dos pilares da agricultura conservacionista, pois o monocultivo de arroz irrigado, apenas em plantio direto, acarreta em perdas de produtividade do arroz no médio prazo (Pauletto et al., 1999; Denardin et al., 2019). Entretanto, sem a adoção do plantio direto, a rotação de culturas isoladamente não contribui para a melhoria da qualidade do solo. Após dezessete anos da adoção de diferentes sistemas de rotação de culturas com o arroz em preparo convencional do solo, a rotação do arroz com a soja e com o milho apresentou menores teores de C orgânico total, N total e C na biomassa microbiana do que na sucessão de arroz com azevém conduzido em plantio direto (Santos et al., 2004).

De acordo com Sahrawat (2004), diversos estudos demonstram maiores acúmulos de C e N em solos alagados com duplos cultivos sucessivos de arroz, como na Ásia. Nessas situações de cultivo do arroz no continente asiático, a rotação com culturas de sequeiro é prejudicial para o acúmulo de C e N no solo, principalmente pela condição aerada favorecer os processos de decomposição da MO do solo (Witt et al., 2000). No entanto, o sistema tradicional de cultivo de arroz irrigado do RS conta somente com um cultivo anual de arroz, compreendendo o período em que há saturação do solo por água de somente 100 dias. No restante do ano, tradicionalmente são adotadas práticas de revolvimento do solo seguidas por pousio em condição aerada (SOSBAI, 2018), potencializando ainda mais a decomposição da MO do solo.

Nessa situação, a diversificação com inserção de gramíneas forrageiras no período hibernal e rotação do arroz com a soja no período estival tem aumentado os teores de C e N até mesmo no curto prazo (30 meses) (Denardin et al., 2018). Neste mesmo trabalho, a diversificação e rotação de culturas em plantio direto aumentaram o teor de formas lábeis (particulada) de N

no solo em 120 kg ha⁻¹ após 30 meses, gerando ganhos em produtividade de grãos do arroz de até 2,6 Mg ha⁻¹, quando comparado ao sistema tradicional de cultivo, em monocultivo de arroz e preparo convencional do solo (Denardin et al., 2018).

Nos últimos anos, a soja surgiu como principal alternativa de cultura de grãos para rotação em sistemas arrozeiros (Almeida e Anghinoni, 2018), principalmente pelo momento de valorização econômica da oleaginosa. O seu cultivo vem sendo recomendado principalmente para diminuir a infestação do arroz-daninho (Xavier et al., 1993), principal planta invasora do cultivo do arroz irrigado no RS (Vedelago et al., 2012), em função da possibilidade de rotação dos princípios ativos de herbicidas (Thomas e Lange, 2014). Além da soja, as pastagens para produção animal também se destacam como alternativas de rotação (CONAB, 2015).

A rotação de culturas com leguminosas pode aumentar e sustentar a produtividade a longo prazo dos sistemas de cultivo de arroz (Singh et al., 2002; Yu et al., 2014). A introdução de leguminosas nas rotações de arroz pode modificar as propriedades físicas e químicas do solo, enquanto melhora a qualidade do solo e aumenta o rendimento de grãos (Zhou et al., 2014; Hartmann et al., 2015). Os benefícios das leguminosas em rotação são devidos não apenas à fixação biológica do N, mas também à melhoria da fertilidade do solo devido a aumentos no teor de MO (Zhu et al., 2012; Cotrufo et al., 2013; Yu et al., 2014).

A rotação de culturas afeta a composição da comunidade microbiana do solo principalmente devido às diferenças na qualidade e quantidade dos resíduos vegetais aportados ao solo (Martinez-Garcia et al., 2018; Pires et al., 2020). A maior eficiência de uso do C pelos microorganismos a partir de resíduos de leguminosas (Cotrufo et al., 2013; Veloso et al., 2018), pode ser uma ferramenta importante para aumentar a disponibilidade de N pela MO do solo em terras baixas.

2.3. Sistemas integrados de produção agropecuária em terras baixas

Os sistemas de produção de arroz irrigado constituem-se em um dos mais antigos exemplos de SIPA em uso no Brasil, com a exploração pecuária

sendo historicamente realizada pela inserção do animal em pastejo no período da entressafra do arroz, visando aproveitar a sua palhada e o seu rebrote (Carvalho et al., 2006; SOSBAI, 2018). Como possibilidade de melhoria desse histórico sistema em uso, a utilização de pastagens cultivadas no período hibernal em rotação com o arroz irrigado é um exemplo de sistema que apresenta grande potencial de uso nas terras baixas do subtrópico brasileiro (Castoldi et al., 2019).

O animal desempenha um papel essencial nos SIPA, sendo o principal agente diversificador do sistema. Esse componente promove mudanças tanto no aporte de resíduos quanto no balanço de nutrientes, havendo uma oferta mais constante de nutrientes, uma vez que existem diferentes fontes de resíduos em decomposição (resíduos orgânicos e dejetos animais) (Larcher, 2000). Enquanto os diferentes componentes vegetais encontrados no sistema incorporam nutrientes e energia (Vezzani e Mielniczuk, 2009), os animais funcionam como catalisadores ao introduzirem variabilidade e novas vias de fluxos de nutrientes e água, sendo o solo o compartimento mediador dos processos (Anghinoni et al., 2013).

Resultados de experimentos com arroz irrigado cultivado após pastejo bovino contínuo por diferentes períodos e locais do RS (Carmona et al., 2016) demonstram que a resposta do arroz à adubação mineral (NPK) diminuiu sensivelmente (de 2,1 a 0,8 Mg ha⁻¹) com o tempo de pastejo (2 a 16 anos). Da mesma forma, o custo da adubação em relação àquela indicada pela análise do solo diminuiu expressivamente na média dos quatro locais (de R\$ 745,00 para R\$ 425,00 ha⁻¹) para uma mesma produtividade (11,1 Mg ha⁻¹). Tais resultados indicam uma maior eficiência de uso de nutrientes pelo arroz e diminuição do custo com adubação, quando da realização da rotação do cultivo do arroz com pastagens.

O pastejo animal pode acelerar a ciclagem de nutrientes, por alterar as condições bióticas e abióticas do solo envolvidas com o processo de decomposição (Shariff et al., 1994). Segundo Reis et al. (2008) e Denardin et al. (2020), a correta adubação das pastagens no período hibernal pode dispensar a aplicação de P e K no arroz irrigado em sucessão. Isto ocorre porque, diferentemente do N, o P e o K são nutrientes que apresentam uma dinâmica diferenciada no solo, o que permite a realização da sua adubação corretiva no

solo (Vahl, 1999). Dessa forma, devido à falta de resposta em produtividade do arroz à adubação com P e K em SIPA, a adubação fosfatada e potássica de reposição pode ser remanejada, antecipando para a fase pastagem e usando os nutrientes mais eficientemente na produção de forragem e animal (Farias et al., 2020).

Em relação à cultura da soja, embora alguns estudos tenham documentado ausência de sua resposta em produtividade sob SIPA em terras altas (Farias et al., 2020), em terras baixas praticamente inexistem estudos. Alguns estudos demonstram que cultivos de soja em rotação com arroz irrigado requerem aplicação de adubação fosfatada, basicamente devido à menor disponibilidade de P no solo, prejudicando o seu desenvolvimento e seu rendimento de grãos no primeiro ano de cultivo após o arroz irrigado (Griffin et al., 1983). Além disso, a soja frequentemente responde à adubação potássica, porque este é um dos nutrientes mais demandados por esta cultura (Bharati et al., 1986).

Diferentemente da soja, o cultivo do arroz irrigado conta com o alagamento do solo, o qual promove diversas alterações eletroquímicas no solo. Entre as alterações observadas, as mais pronunciadas referem-se a transformações no potencial REDOX, aumentando o pH do solo, ficando próximo à neutralidade (6,5–7,0) (Sousa et al., 2015). Estas condições provocam o aumento de eletrólitos na solução do solo, conduzindo à liberação de cátions presentes nos sítios de troca da matriz coloidal. Deste modo, há o aumento na concentração de alguns íons, como o K, na solução do solo (Camargo et al., 1999). Além disso, íons adsorvidos nas argilas ou nos hidróxidos de ferro e alumínio, como o P, podem ser liberados na solução do solo quando o mesmo é submerso (Sousa et al., 2015). Dessa forma, o aumento da solubilidade do P decorrente da inundação determina uma melhor eficiência da utilização deste elemento, minimizado a dependência de fertilizantes fosfatados no cultivo do arroz (Grande et al., 1986).

A adubação nitrogenada no cultivo do arroz irrigado, no entanto, tem sua dinâmica diferenciada, por se tratar de um nutriente que não apresenta adubação corretiva no solo. No entanto, os SIPA podem intensificar a ciclagem de N dos resíduos culturais e da excreta animal, transferindo os nutrientes dentro do ciclo da pastagem e de uma cultura para outra, podendo reduzir as

quantidades de fertilizantes nitrogenados e melhorando a qualidade do solo (Soussana e Lemaire, 2014; Denardin et al., 2020). A deposição de dejetos e urina pelos animais em pastejo exerce uma forte influência na concentração de N nas comunidades microbianas e, como resultado, aumenta a decomposição da MO e a disponibilidade de N (McNaughton, 1992).

Além disso, o pastejo altera as vias do ciclo do N por modificar a estrutura e composição da pastagem e o teor de N nos tecidos das plantas (Bardgett et al., 1998). Essas mudanças provocadas pelo pastejo tendem a aumentar a disponibilidade de N inorgânico para a cultura em sucessão, pela melhoria da qualidade da biomassa das plantas (Bardgett et al., 1998; Assmann et al., 2015), pelo efeito sobre a imobilização microbiana e por alterar o fluxo de C das plantas em direção ao solo (Stark e Grellmann, 2002).

Em SIPA, a biomassa microbiana é caracteristicamente elevada em ambiente com pastagem e apresenta maior estoque de nutrientes lábeis (Perrot e Sarathchandra, 1989). Segundo Haynes e Willians (1999), as quantidades de N incorporadas na biomassa microbiana em um sistema típico de pastagem, são de aproximadamente 60 kg N ha^{-1} . Esse valor representa cerca de 50% da necessidade da cultura do arroz para altas produtividades (SOSBAI, 2018). De certa forma, necessita-se entender mecanismos envolvidos com a resposta do arroz à adubação nitrogenada, bem como a disponibilidade de N pelo solo, em diferentes arranjos produtivos.

3. Fatores reguladores da disponibilidade de nitrogênio para o arroz em terras baixas

3.1. Matéria orgânica do solo

A MO é um importante constituinte da fertilidade do solo, por manter a integridade das funções ecológicas e ambientais do solo e a produtividade dos cultivos agrícolas (Sahrawat, 2004; 2005). Devido à sua capacidade de adsorção e liberação de íons, ela apresenta papel fundamental no suprimento de nutrientes às plantas. Além disso, ela apresenta na sua composição nutrientes essenciais, como o N e o P, e por isso é considerada um atributo-chave

relacionado à disponibilidade de nutrientes e à fertilidade do solo (Gregorich et al., 1994; Franchini et al., 2007; Babujia et al., 2010; Souza et al., 2014).

Em solos alagados, mesmo com grandes quantidades de fertilizante nitrogenado aplicado, mais de 50% do N assimilado pelas culturas é originado da liberação de compostos orgânicos do solo (Cassman e Pingali, 1995; Mikkelsen, 1987), provindos da MO e dos resíduos culturais. Estudos (Ando et al., 1992; Mangiat et al., 1994) apontam que no cultivo de arroz irrigado, 50 a 70% do N absorvido para produção de grãos é advinda de compostos do solo.

3.2. Atividade microbiana e mineralização do nitrogênio em ambientes alagados

A decomposição microbiana da MO do solo aerado é realizada por uma ampla diversidade de microrganismos, incluindo fungos, bactérias heterotróficas e actinomicetos. A respiração desses organismos está associada à alta liberação de energia. Diferentemente desses, os microrganismos anaeróbios operam em um nível de energia mais baixo e são menos eficientes do que os aeróbios, como consequência da decomposição incompleta de carboidratos e da menor síntese de células microbianas por unidade de C orgânico decomposto (Payne, 1970). Assim, a decomposição de resíduos de plantas e da MO é tipicamente mais lenta em solo alagado do que aerado (Acharya, 1935; Sahrawat, 1981; Villegas-Pangga et al., 2000; Cantarella, 2007).

O N potencialmente mineralizável pode constituir de 2 a 7% do N total do solo (Narteh e Sahrawat, 1997). No entanto, Sahrawat (1983) demonstra que as quantidades de N total convertidas em formas minerais durante a incubação podem variar de 1,8 a 26% desse total. Tanto para solos aerados como não aerados, dentre os fatores que mais se correlacionam com a quantidade de N mineralizada estão o teor de MO e características do material orgânico aportado ao solo, além da quantidade de elementos inorgânicos aceptores de elétrons (Ponnamperuma, 1972; Meli et al., 2003; Sahrawat, 2004).

Em relação às características dos materiais orgânicos, além da quantidade adicionada, destacam-se aspectos relacionados à sua qualidade, tais como a relação C / N, o conteúdo de lignina e lipídios e o grau de hidratação (Sousa, 2010). Meli et al. (2003) avaliaram as respostas da respiração

microbiana à adição de diferentes substratos no solo e descobriram que o maior aporte de N facilitou o uso do amido pelos microrganismos do solo, reduzindo o tempo necessário para a ocorrência da máxima taxa respiratória. Assim, o aporte de resíduos de melhor qualidade, contendo maior quantidade de N e menor conteúdo de lignina pode favorecer a mineralização de N do solo pela maior atividade microbiana (Meli et al., 2003).

Embora os microrganismos em solos de terras baixas sejam importantes agentes relacionados à disponibilidade de N a partir da mineralização da MO do solo, eles também são importantes drenos temporários do N fornecido via fertilizantes e resíduos (Bird et al., 2001; 2003). Devido ao seu papel na imobilização de N, eles também podem ser fontes importantes desse nutriente ao longo do cultivo do arroz (Eagle et al., 2001; Bird et al., 2002), por sua liberação em taxas mais lentas e constantes, podendo ser mais eficientemente absorvido pelo arroz.

3.3. Eficiência de uso do nitrogênio pelo arroz irrigado

A avaliação da eficiência de uso do N pelo arroz é de extrema importância devido tanto a aspectos econômicos quanto ambientais. Apesar de existirem diversos estudos abordando estratégias baseadas no manejo da adubação para aumentar a eficiência do uso de N no arroz irrigado, a eficiência de recuperação do fertilizante nitrogenado aplicado (quantidade de N absorvido pela planta para cada kg de N aplicado via fertilizante) e a eficiência agronômica (quantidade de grãos produzidos para cada kg de N aplicado via fertilizante) ainda são relativamente baixas (Cassman et al., 1993). Devido a isso, o uso racional da adubação nitrogenada é fundamental, não somente para aumentar a eficiência de recuperação, mas também para aumentar a produtividade da cultura e diminuir os custos de produção e os impactos com contaminação ambiental (Zhu et al., 2002; Guo et al., 2010; Zhang et al., 2018).

A eficiência de recuperação de N pode ser incrementada com adoção de práticas de manejo apropriadas, como uso de dose e época adequadas de aplicação de acordo com a necessidade da cultura (Alves et al., 2005). Eficiências de recuperação no N aplicado de 30 a 50% são normalmente encontradas em experimentos de campo com arroz irrigado nos trópicos, com

eficiências agronômicas de 15 a 25 kg de grãos por kg de N aplicado via fertilizante, dependendo da época de semeadura, nível de produtividade atingida e dose de N aplicada (Yoshida, 1981). Estratégias que visem adequar a adubação nitrogenada conforme a demanda de N pelo arroz estão reduzindo a demanda de N via fertilizantes, sendo uma oportunidade para aumentar a eficiência de uso desse nutriente (Wang et al., 2001; 2003; 2007; Hu et al., 2007).

Uma das principais formas de se avaliar a eficiência de uso de N é a partir da sua absorção (Fageria e Baligar, 2005), avaliada pelo teor total de N acumulado na MS da parte aérea na maturação fisiológica, apresentando alta correlação com a produtividade de grãos. Segundo Dobermann e Fairhurst (2000), para os principais macronutrientes existe uma taxa ótima de absorção para atingir o potencial na produtividade de grãos. Esses valores são calculados pela eficiência de uso dos nutrientes requeridos em maior quantidade, com avaliação de um balanço adequado entre eles. Com base nisso, encontra-se um valor intermediário de nutriente absorvido para que não haja falta ou excesso para a planta, garantindo alta produtividade de grãos. Em sistemas tradicionais de cultivo de arroz irrigado, contando que o crescimento das plantas seja limitado apenas à disponibilidade de N, o equilíbrio nutricional ótimo é alcançado com absorção de ~ 14,7 kg N por tonelada de grãos produzidos. Assim, a eficiência ótima de uso do N no arroz irrigado é de 68 kg de grãos produzidos por kg de N absorvido (Dobermann e Fairhurst, 2000).

Diversos estudos têm utilizado isótopos estáveis de ^{15}N via fertilizantes a fim de quantificar a eficiência de recuperação do N aplicado via fertilizante (Bronson et al., 2000). Essa técnica parte do princípio de que qualquer material existente na natureza que possua N em sua constituição apresentará uma proporção de 0,366% de átomos de ^{15}N em relação ao total de N que, em sua maioria é composto do isótopo ^{14}N . Assim, se uma planta cresce utilizando N de duas fontes (ex. solo e fertilizante) e uma delas for artificialmente enriquecida com ^{15}N , é possível determinar a contribuição de cada uma para a nutrição da planta (Alves et al., 2005).

Por meio de técnicas que empregam resinas de troca iônica, é possível obter fertilizantes nitrogenados com uma proporção de ^{15}N superior à encontrada na natureza (e.g. contendo 1% de ^{15}N em relação ao total). A técnica para avaliação da eficiência de uso do N é considerada indireta e é baseada no

conceito de que, quando existem duas ou mais fontes de N (e.g. N do solo e N do fertilizante), a planta irá absorver, de cada fonte, quantidades proporcionais às respectivas quantidades disponíveis (Alves et al., 1999).

Durante 20 anos (de 1987 a 2007), o foco das pesquisas em aumentar a eficiência de uso do N pelo arroz evoluiu de “reduzir as perdas de N” per se para “alimentar as necessidades de N pelo arroz” (Buresh, 2007). Essa abordagem visava identificar as necessidades específicas da cultura por esse nutriente e realizar as adubações de acordo com os períodos de maior absorção, aumentando o rendimento por unidade de fertilizante aplicado, consequentemente reduzindo as suas perdas (Pampolino et al., 2007).

O que há de mais recente relacionado ao aumento da eficiência do uso do N nos sistemas de produção enfatiza a necessidade de uma maior sincronia entre a demanda de N pelas culturas e o seu suprimento por todas as fontes ao longo da estação de crescimento (Matson et al., 1997; Cassman et al., 2002; Cui et al., 2008a,b). O termo sincronia se refere ao acompanhamento entre a liberação de nutrientes com a demanda nutricional da planta (Myers et al., 1994). Esse termo, usado nesse sentido, implica que a taxa de liberação de um nutriente em forma disponível esteja fortemente relacionada ao padrão de crescimento da planta. No entanto, essa sincronia é extremamente difícil de se alcançar em sistemas puramente agrícolas, os quais geralmente contam com somente com fontes de resíduos em decomposição a partir do componente vegetal.

Como já abordado anteriormente (item 2.2.3), os SIPA contam com uma diversidade de resíduos aportados, tanto de origem animal quanto vegetal, os quais apresentam quantidades diferentes de nutrientes, que serão liberados também de forma e em tempos distintos. Somente considerando o esterco, cerca de 10 a 55% do N contido nos dejetos são disponíveis para o cultivo subsequente à sua deposição (Whitehead, 2000). Assim, no ciclo de uma cultura inserida em um SIPA, as diversas fontes de nutrientes, sendo elas o solo, a fertilização mineral e os resíduos vegetais e animais (esterco e urina), em diferentes estágios de decomposição e liberação, acompanhada de uma maior biodiversidade microbiana (Martins et al., 2017), podem possivelmente nutrir as plantas e suprir com suas exigências de forma mais eficaz do que comparado a sistemas exclusivamente agrícolas.

Em estudo avaliando a eficiência de uso dos nutrientes pelo arroz em SIPA, Denardin et al. (2020) verificaram maior eficiência no uso do N em SIPA, sendo 25% superior ao sistema tradicional de cultivo por produzir mais grãos com a mesma quantidade de N absorvida. A menor necessidade de absorver N para produzir a mesma quantidade de grãos se deve principalmente em função da dinâmica diferenciada de crescimento da planta, acompanhada da maior sincronia de liberação do N. Segundo esses autores, os microrganismos do solo atuam como protagonistas na promoção da maior eficiência de uso do N, por imobilizarem temporariamente grande parte desse nutriente após sua adubação, liberando-o gradivamente em taxas constantes ao longo do ciclo da cultura (Denardin et al., 2020).

4. Microrganismos do solo como reguladores da disponibilidade de N para o arroz irrigado

4.1. Biomassa microbiana do solo em sistemas conservacionistas em terras baixas

Os microrganismos do solo estão relacionados à dinâmica do N no cultivo de arroz por serem os principais agentes direcionadores do fluxo e da disponibilidade de N, mediado por processos de imobilização e mineralização (Reichardt et al., 1997). Acredita-se que a biomassa microbiana do solo é revertida com rapidez suficiente para ser considerada uma importante fonte de N no cultivo do arroz (Inubushi e Watanabe, 1987). Assim, a sua avaliação e quantificação é de extrema importância, a fim de se conhecer a capacidade de suprimento, bem como dinâmica de liberação de N pelo solo.

Estudos realizados em ambientes de terras altas relatam que a adoção de práticas conservacionistas de manejo do solo, com mínimo revolvimento do solo (plantio direto) e alto aporte de resíduos, pode contribuir para o desenvolvimento da comunidade microbiana e para a qualidade do solo (Hobbs et al., 2008; Derpsch e Friedrich, 2009; Pittelkow et al., 2014). Além disso, a rotação de culturas pode também contribuir para a melhoria da comunidade microbiana do solo (Ferrari et al., 2015; Aschi et al., 2017; Ai et al., 2018), pelo aumento da diversidade de espécies vegetais no sistema produtivo.

O maior aporte e a diversidade de resíduos são também a principal justificativa para os incrementos em biomassa microbiana do solo encontrados em SIPA. Em estudos de terras altas de clima subtropical, Silva et al. (2015) verificaram um incremento de 150% na biomassa microbiana do solo sob SIPA, comparado ao tratamento sem pastejo. Em intensidades moderadas de pastejo (20 a 30 cm de altura do pasto), há uma adição significativa de resíduos de perfilhos da pastagem, que estimula a biomassa microbiana do solo, como resultado da liberação de compostos orgânicos, como exsudatos, mucilagens e secreções pelas plantas, associado à constante renovação do sistema radicular denso, aumentando a disponibilidade de nutrientes para a microbiota do solo (Tisdall e Oades, 1982).

A presença de animais em pastejo também desempenha um papel importante na ecologia microbiana do solo, através de uma série de fatores específicos associados à deposição de urina e fezes (Clegg, 2006). Os dejetos animais contêm C solúvel e N, os quais tendem a estimular a atividade microbiana e os processos de mineralização da MO do solo (Hatch et al., 2000). Consequentemente, enquanto se estima que em solo com pastagens o C da biomassa microbiana seja em torno de 5% do C orgânico total do solo, em solos agrícolas essa fração geralmente é inferior a 2,5% (Dalal, 1998; Fierer et al., 2009).

Tratando-se de ambientes alagados, envolvendo principalmente o cultivo do arroz, os estudos sobre o impacto da adoção de sistemas conservacionistas na biomassa e na comunidade microbiana são incipientes. Sabe-se que, durante o ciclo de cultivo de arroz, a comunidade microbiana do solo exibe diversas mudanças populacionais, relacionadas principalmente ao alagamento (Bossio e Scow, 1998) e ao manejo do solo (Reichardt et al., 2001). As práticas agrícolas, principalmente o manejo da palhada e da adubação, modificam a disponibilidade de nutrientes na superfície do solo, levando a uma discriminação tanto da biomassa quanto da composição da comunidade microbiana. Nesse sentido, tão importante quanto quantificar a biomassa microbiana do solo, é conhecer a composição da comunidade microbiana, podendo-se estabelecer relações com o manejo realizado, bem como estabelecer estratégias a fim de melhorar os processos envolvidos com a disponibilidade de N.

4.2. Composição da comunidade microbiana em sistemas conservacionistas em terras baixas

A composição da comunidade microbiana do solo é regulada por diversos fatores bióticos e abióticos (Fakruddin et al., 2013). Os fatores abióticos incluem fatores físicos e químicos, como disponibilidade de água e nutrientes, aeração, temperatura, composição bioquímica dos resíduos culturais, pH, pesticidas e atividades antrópicas e, por isto, são facilmente alterados pelo manejo do solo e sistema de culturas. Em relação à comunidade fúngica, por exemplo, sabe-se que os fungos preferem ambientes com pH mais ácido e decompõem normalmente resíduos com alta relação C / N, degradando carboidratos, como a celulose. Da mesma forma, os actinomicetos (filo de bactérias gram+), se comportam de maneira semelhante aos fungos (Ferré et al., 2012).

Diferentemente, as bactérias gram- são mais adaptadas em ambientes que contêm substratos mais lábeis e ricos em N (Wan et al., 2014). A partir de análises de isótopos estáveis, Kramer e Gleixner (2008) identificaram que bactérias gram- preferem fontes mais lábeis de C, derivadas de plantas, enquanto bactérias gram+ utilizam preferencialmente a MO do solo como fonte de C, mais recalcitrantes. Em função disso, a relação de bactérias gram+ / gram- está sendo utilizada como um indicador da disponibilidade de C para comunidades bacterianas do solo (Fanin et al., 2014; 2019).

A avaliação da composição da comunidade microbiana pode ser realizada através da caracterização de perfis de ácidos graxos fosfolipídicos (*phospholipid fatty acid* - PLFA). Essa técnica é historicamente utilizada em estudos avaliando comunidades microbianas, sobretudo relacionando-se com padrões de utilização de substrato. A análise de PLFA é uma técnica bastante utilizada, pois é um método bioquímico que fornece informações diretas sobre a composição da comunidade microbiana ativa (Vestal e White, 1989). Os ácidos graxos fosfolipídicos são componentes presentes nas membranas das células e seus grupos polares com cadeias laterais ligadas por outros elementos apresentam distintas composições entre seres eucariontes e procariontes, bem como entre muitos grupos procarióticos. Eles não são encontrados em produtos

de armazenamento ou em células mortas, pois são rapidamente degradados (Pinkart et al., 2002), tornando-os bons indicadores de organismos vivos (White et al., 1979). Em condições normais do ambiente, os fosfolipídios constituem uma proporção relativamente constante da biomassa dos microrganismos e, portanto, a soma de todos os PLFAs detectáveis normalmente é usada como um indicador da biomassa microbiana total do solo (Lechevalier, 1989).

Uma mudança clara na composição da comunidade microbiana é observada em função do alagamento do solo no cultivo do arroz. Segundo Ferré et al. (2012), a população microbiana reage rápida e sensivelmente a práticas como o revolvimento e o alagamento do solo. A proporção de bactérias gram+ para gram- é maior em solo alagado do que em solo não alagado, sugerindo que o alagamento do solo favoreça a proporção de bactérias gram+, provavelmente devido ao fato de que este grupo inclui muitos microrganismos que podem sobreviver por um longo período de tempo no solo sob condições adversas (K-estrategistas), além de estarem mais relacionadas à constituição de microrganismos anaeróbicos facultativos (Parkers e Taylor, 1983; Guckert et al., 1985). Resultados semelhantes foram encontrados por Bossio e Scow (1998) e Bai et al. (2000), os quais observaram um aumento de ácidos graxos ramificados, indicativo de bactérias gram+, em solos alagados. Assim, embora as bactérias gram- e fungos sejam considerados os principais responsáveis pela decomposição de resíduos em condições aeróbias de terras altas (Nakamura et al., 2003), em terras baixas, sob alagamento, as bactérias gram+ atuam como os principais decompositores da palha do arroz (Kimura et al., 2001).

Dentre os constituintes da comunidade microbiana do solo, os fungos apresentam grande importância, por serem um dos grupos mais atuantes no processo de mineralização do N da MO (Reichardt et al., 2001; Nakamura et al., 2003). Apesar do fato de alguns autores (Reichardt et al., 1997; 2001) relacionarem o alagamento do solo com a diminuição da comunidade fúngica, Bossio e Scow (1995), Goshal e Singh (1995) e Ferré et al. (2012) encontraram aumentos na abundância de fungos durante o período de alagamento. De acordo com esses autores, o pico observado do biomarcador fúngico ocorre em um estágio de crescimento do arroz, associado a maiores liberações de exsudatos de C pelas raízes (Chidthaisong e Watanabe, 1997a,b; Aulakh et al., 2001).

Segundo Lu et al. (2007), que realizaram um experimento utilizando marcadores isotópicos estáveis, os microrganismos eucarióticos atuamativamente na rizosfera do arroz incorporando grandes quantidades de C radicular, demonstrando a forte associação entre microrganismos ativos, sobretudo do grupo dos fungos, com a dinâmica do C no solo. Isto permite concluir que o alagamento do solo durante o cultivo do arroz não interfere igualmente na comunidade microbiana em todos os sistemas de produção. Conhecendo a estreita relação entre a comunidade microbiana e a dinâmica do C no solo alagado, mudanças no manejo envolvendo principalmente a alteração da quantidade e diversidade de resíduos aportados podem afetar a comunidade microbiana, influenciando na mineralização do N do solo.

Em termos de qualidade, a relação C / N dos resíduos demonstra ser o principal fator que afeta a composição da comunidade microbiana do solo (Henriksen e Breland, 2002; Geisseler et al., 2011; Kamble e Bååth, 2016). A adição de resíduos de alta qualidade (baixa relação C / N), como o de leguminosas, favorece a dominância bacteriana, enquanto os resíduos de baixa qualidade (alta relação C / N) promovem o crescimento de fungos (Bossuyt et al., 2001; Kramer et al., 2012), o que pode alterar a mineralização de N pela MO do solo (Tian et al., 2015).

Além da alteração da composição da comunidade microbiana, a mineralização da MO do solo pode ser estimulada também pelo aporte de resíduos lábeis de plantas e pela adubação mineral (Chen et al., 2014a; Ge et al., 2017; Zhu et al., 2018; Liu et al., 2019; Zhao et al., 2019). Esse efeito, também conhecido como ‘efeito priming’, é definido como o aumento ou a diminuição da absorção de N advindo da MO do solo pelas plantas após adição de fertilizantes, em comparação a tratamentos sem adubação (Kuzyakov, 2000; Ge et al., 2012; Zhu et al., 2018). Essa maior absorção do N nativo do solo N pode ser decorrente tanto do aumento da mineralização da MO do solo, mediada pela atividade microbiana, quanto pelo aumento do crescimento das raízes das plantas, aumentando sua capacidade de absorver N do solo (Jenkinson et al., 1985; Ashraf et al., 2004).

4.3. Impacto da adubação mineral na comunidade microbiana do solo

Os microrganismos do solo são limitados por N, P e outros macro e micro-nutrientes (Kuzyakov e Xu, 2013). Por isto, os fertilizantes minerais têm sido responsáveis por afetar tanto a atividade quanto a composição da comunidade microbiana do solo (Marschner et al., 2003; Böhme et al., 2005; Chen et al., 2014b; Pan et al., 2014; Ding et al., 2016).

O N e o P são normalmente nutrientes limitantes para o crescimento da biomassa microbiana em terras baixas (Keller et al., 2005; Liu e Song, 2008; Geisseler et al., 2017). Da mesma forma, o K pode promover o aumento da produção e aporte de biomassa vegetal e exsudados, afetando indiretamente a biomassa microbiana do solo (Geisseler et al., 2017). Portanto, a adubação mineral pode afetar diretamente a disponibilidade desses nutrientes, afetando a mineralização da MO do solo (Böhme et al., 2005; Garcia-Pausas e Paterson, 2011; Ladha et al., 2011; Pan et al., 2014).

A adubação realizada nos diferentes sistemas de produção agrícola tem efeito direto sobre a comunidade microbiana do solo. A adubação nitrogenada aumenta acentuadamente os níveis desse nutriente no solo, o que faz com que a comunidade microbiana seja fortemente afetada (Wardle, 1992). Devido a isto, em aproximadamente 84% dos casos a composição da comunidade microbiana é alterada após a adubação nitrogenada (Allison e Martiny, 2008).

Metanálises recentes sugerem que o aumento da adubação nitrogenada suprime microrganismos do solo (Treseder, 2008; Liu e Greaver, 2010; Lu et al., 2011). Altas taxas de aplicação de N via adubação levam a potenciais osmóticos temporariamente muito altos e concentrações potencialmente tóxicas das formas de N adicionadas (Eno et al., 1955; Omar e Ismail, 1999). O NH_4^+ é a fonte preferencial de N para a maioria das bactérias e fungos (Merrick e Edwards, 1995; Marzluf, 1997). No entanto, quando aplicados em altas doses, os fertilizantes amoniácais e amídicos podem inibir os microrganismos do solo devido à toxicidade do amônio, aumento do pH e aumento da força iônica (Eno et al., 1955; Omar e Ismail, 1999) (Figura 2).

Embora a produção primária líquida nos ecossistemas terrestres seja geralmente limitada pelo N, os microrganismos do solo dependem tanto do N

quanto do C para seu crescimento e desenvolvimento (Wardle, 1992). Por consequência, análises da composição da comunidade bacteriana do solo têm indicado alterações decorrentes principalmente de mudanças na disponibilidade de C e N pelo solo (Fierer et al., 2009; Ramirez et al., 2010). Em ecossistemas agrícolas, a biomassa microbiana do solo é fortemente relacionada às concentrações de C orgânico (Booth et al., 2005; Cleveland e Liptzin, 2007; Fierer et al., 2009; Kallenbach e Grandy, 2011). Nesse sentido, a adubação nitrogenada pode ter um importante efeito indireto na composição da comunidade microbiana do solo, tendo em vista que a maior produção de biomassa vegetal causada pela adubação aumenta a entrada de material orgânico na forma de exsudatos radiculares, raízes em decomposição e resíduos de superfície, aumentando assim as fontes de C e podendo alterar a comunidade microbiana do solo (Figura 2).

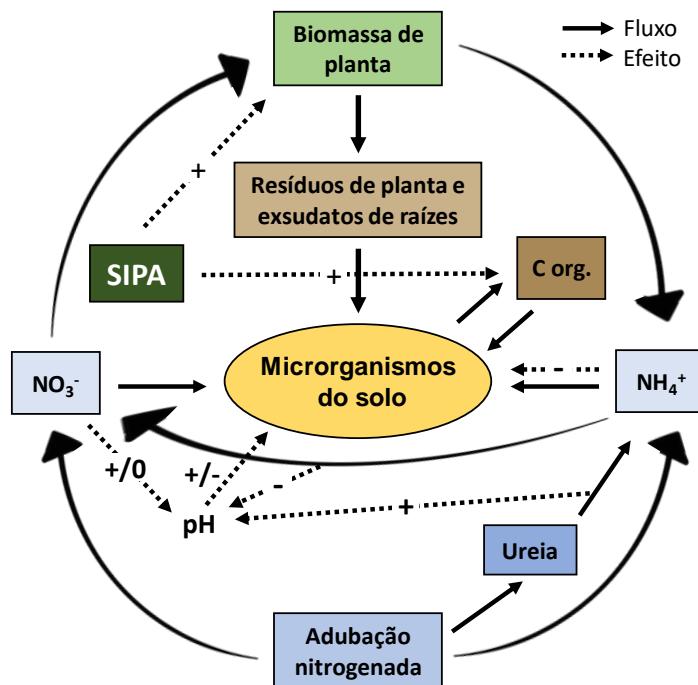


Figura 2. Modelo conceitual dos fluxos e efeitos diretos e indiretos da adubação mineral nitrogenada e da adoção de sistemas integrados de produção agropecuária (SIPA) na comunidade microbiana de solos agrícolas. Fonte: Adaptado de Geisseler e Scow (2014).

Considerando o aporte de N via fontes orgânicas, a dinâmica de resposta dos microrganismos parece ser distinta. Segundo metanálise realizada por Kallenbach e Grandy (2011), a forma como o N entra no solo (via adubo

orgânico ou mineral) altera a resposta da comunidade microbiana. Em sistemas agrícolas, aplicando a mesma quantidade de N via esterco e via fonte inorgânica, a adubação com esterco resulta em aumento 60% maior na biomassa microbiana do solo. Em adição, quanto maiores as quantidades de N aplicadas via esterco, maiores foram os incrementos em C da biomassa microbiana do solo (Kallenbach e Grandy, 2011).

Embora o uso de adubos orgânicos como fonte de nutrientes não seja uma prática frequente no cultivo do arroz, os SIPA contam com o componente animal, responsável pela conversão de grande parte dos resíduos vegetais em animais. Em ambos os casos, o C e o N são fornecidos aos microrganismos no solo de forma agrupada. Isso pode ser especialmente importante em função da biomassa microbiana ser co-limitada por ambos os nutrientes (Schimel e Weintraub, 2003). Assim, o fornecimento de resíduos animais (como o esterco), que contêm maior quantidade de N (menor relação C / N) pode favorecer o acoplamento de ambos a partir da expansão da biomassa microbiana (Carreiro et al., 2000; Sinsabaugh, 2010; Kallenbach e Grandy, 2011).

CAPÍTULO III – MATERIAL E MÉTODOS GERAL

1. Localização geográfica, clima, solo e histórico da área experimental

Os estudos foram realizados em área experimental de 18 hectares conduzida desde 2013, na Fazenda Corticeiras, localizada no município de Cristal, região orizícola da Planície Costeira Interna, RS, região Sul do Brasil. ($30^{\circ}97'26''$ S latitude, $51^{\circ}95'04''$ O longitude). A altitude do local é de 28 metros acima do nível do mar e o clima caracteriza-se como subtropical úmido e quente (Cfa), segundo a classificação de Köppen (Kottek et al., 2006), com temperatura média anual de $18,3^{\circ}\text{C}$ e precipitação média anual de 1.522 mm (Wrege et al., 2011).

O solo é classificado como PLANOSSOLO Háplico Eutrófico típico (EMBRAPA, 2006), com relevo plano a suavemente ondulado e declividade máxima de $0,04\text{ m m}^{-1}$. O solo naturalmente apresenta má drenagem e textura franco-argiloarenosa, com 240, 230 e 530 g kg^{-1} das frações granulométricas argila, silte e areia, respectivamente, na camada de 0–20 cm do solo.

A área experimental historicamente era cultivada com arroz irrigado intercalado com períodos variáveis de pousio desde a década de 1960. Seu último cultivo de arroz foi em 2009, sendo após esse período utilizada com produção de ovinos em pastagens nativas com crescimento de espécies vegetais espontâneas. Em março de 2013, imediatamente antes da implantação do experimento, amostras de solo foram coletadas na camada de 0–20 cm e apresentaram as seguintes características químicas (Tedesco et al., 1995): 5,5

de pH em água; 18 g kg⁻¹ de MO; 10 mg dm⁻³ de P (Mehllich 1); 76 mg dm⁻³ de K (Mehllich 1); 3,5, 2,3 e 0,1 cmol_c dm⁻³ de cálcio, magnésio e alumínio trocáveis (KCl 1,0 mol L⁻¹), respectivamente; CTC_{pH7,0} de 10,6 cmol_c dm⁻³; e saturação por bases e Al de 56,0 e 7,5%, respectivamente.

Na implantação do experimento, foi realizado preparo convencional de toda a área com o uso de arado e três operações com grade niveladora. No intervalo entre as gradagens, foi aplicado calcário dolomítico para correção da acidez da camada de 0–20 cm, com objetivo de se aumentar o pH até 6,0 (SBCS, 2004), a partir de uma aplicação de 4,5 Mg ha⁻¹ (PRNT 70%).

2. Tratamentos e delineamento experimental

O protocolo experimental inclui cinco sistemas de produção de arroz (tratamentos), distribuídos em um delineamento experimental de blocos ao acaso, com três repetições, contando com um total de 15 unidades experimentais com área média de 1,1 ha (Figura 3).



Figura 3. Distribuição dos tratamentos no protocolo experimental SIPA terras baixas, englobando os cinco sistemas de produção adotados, inseridos nos três distintos blocos casualizados, com as respectivas áreas de cada parcela, no município de Cristal/RS. Fonte: Carmona et al. (2018)

Os sistemas em estudo envolvem as variáveis diversidade espacial e temporal de cultivos e intensidade temporal do cultivo de arroz, de modo a representar modelos de produção para os diferentes cenários das terras baixas do RS, tendo o arroz como a cultura de referência. As fases de cada sistema de produção não estão todas presentes ao mesmo tempo. Dos cinco sistemas em estudo, três foram utilizados. O Sistema 1, considerado a testemunha, representa o sistema de cultivo de arroz irrigado, predominantemente conduzido em monocultivo em preparo convencional. Em alternativa, foram testados dois SIPA – um somente com a introdução do animal em pastagem hibernal de azevém (*Lolium multiflorum*) (Sistema 2) e outro semelhante com pastejo hibernal, mas com a rotação de soja e arroz no período estival (Sistema 3), ambos conduzidos em plantio direto. A descrição dos diferentes sistemas adotados segue a seguir:

Sistema 1: arroz – pousio – arroz. É o sistema dominante na maioria das lavouras arrozeiras no RS, denominado sistema tradicional, e serve de testemunha em relação aos demais sistemas, caracterizando-se como monocultivo. Este tratamento consiste no cultivo mínimo, com operações de gradagem e preparo de solo, logo após a colheita e muito antes da semeadura do arroz. Neste sistema não ocorre pastejo animal. O pousio caracteriza-se como restos da cultura do arroz e vegetação espontânea.

Sistema 2: arroz – azevém – arroz. Este modelo enseja o perfil das pequenas e médias propriedades da Depressão Central e Planícies Costeiras, Interna e Externa, com cultivo anual de arroz irrigado. A implantação de azevém no inverno conta com o pastejo animal e, por consequência, uma melhor utilização da terra no período normalmente ocioso.

Sistema 3: arroz – azevém – soja – azevém – arroz. Este modelo está sendo implementado nas seis regiões orizícolas do RS, tanto em pequenas, quanto em médias e grandes propriedades.

Com exceção do Sistema 1, todos os demais sistemas são conduzidos em plantio direto. O único evento de mobilização do solo ocorre na restauração das taipas antes do cultivo do arroz e o sulco de semeadura nas demais culturas de verão.

3. Condução dos sistemas de produção

O cultivo do arroz na fase de verão é iniciado com semeadura a partir de 20 de setembro. As variedades já utilizadas no experimento foram a IRGA 424® (safras 2013/2014 e 2014/2015), IRGA 430® (safra 2015/2016) e IRGA 424 RI® (safras 2016/2017, 2017/2018 e 2018/2019), com densidade de semeadura de 100 kg ha⁻¹. O cultivo de soja sempre foi iniciado em meados de outubro. Até a safra 2017/18 utilizou-se a cultivar TEC IRGA 6070 RR® e, na safra 2018/2019, utilizou-se a cultivar BSIRga 1642 IPro®, com densidade de semeadura de 40 kg ha⁻¹. As culturas foram manejadas (inoculação e/ou tratamento de sementes, adubação, herbicidas, inseticidas e fungicidas) de acordo com as recomendações técnicas para cada cultura.

Na pastagem no período hibernal, nos Sistemas 2 e 3, foi utilizada a cultivar de azevém BRS Ponteio®, com densidade de 30 kg ha⁻¹. O pastejo nesses Sistemas foi realizado pelo método contínuo com lotação variável, composto por três animais-teste (*testers*) por unidade experimental e por animais reguladores que entravam e saiam da pastagem conforme a necessidade de ajuste da altura, seguindo a metodologia proposta por Mott e Lucas (1952). Para isto, foram utilizados animais jovens recém-desmamados com 10 meses de idade média, machos castrados contendo cerca de 200 kg de peso vivo.

O início do pastejo ocorre no momento em que a altura do pasto atingia aproximadamente 15 cm (em torno de 1.500 kg de MS ha⁻¹), mantendo-se essa altura ao longo do ciclo do pastejo, que se estende até meados de outubro – novembro, dependendo da cultura em sucessão. O acompanhamento da altura do pasto é realizado a cada 15 dias, por meio de um bastão graduado (*Sward stick*) (Bircham, 1981; Barthram, 1985), cujo marcador corre por uma “réguia” até tocar a primeira lâmina foliar, procedendo-se então à avaliação da altura. Em cada parcela, foram realizadas cerca de 150 avaliações (pontos), em caminhamento aleatório, a fim de definir a altura média do pasto. A entrada dos animais foi feita após pesagem, acompanhada de jejum prévio de 15 horas, com vermiculação e identificação dos animais com brincos.

4. Adubação dos sistemas

A adubação nos diferentes sistemas, desde a implantação do experimento (2013), até o último ano de análise do presente estudo (2019), está especificada e detalhada na Tabela 1. Os critérios utilizados para definição da adubação na primeira fase do experimento (2013 – 2016) foram diferentes dos utilizados na segunda fase (2017 – 2021). Na primeira fase, cada tratamento foi considerado um sistema diferente dos demais. Dessa forma, cada sistema recebeu diferentes adubações, seguindo determinadas expectativas de resposta/produtividade de cada cultivo, elevando-se, assim, os níveis de fertilidade em todos os sistemas. Para a segunda fase, teve-se como objetivo avaliar a capacidade de cada sistema de se sustentar no tempo. Como todos os sistemas apresentavam teores de P e K disponíveis no solo acima dos teores críticos e teores de MO do solo enquadrados na classe baixa (<2,5%) (SBCS, 2016), todos os sistemas passaram a ser contemplados com a mesma quantidade de nutrientes. Para isso, a adubação foi estipulada com base na escolha da cultura que apresenta a maior exportação de nutrientes, fazendo com que houvesse quantidades suficientes para reposição de nutrientes em todos os sistemas e que todos recebessem a mesma quantidade de nutrientes.

Tabela 1. Detalhamento das adubações (em kg ha⁻¹) realizadas nos SIPA de 2013 a 2019 no experimento SIPA terras baixas, localizado no município de Cristal/RS.

Época/Ano	Sistema 1			Sistema 2			Sistema 3		
	N	P ₂ O ₅	K ₂ O	N	P ₂ O ₅	K ₂ O	N	P ₂ O ₅	K ₂ O
Inverno 2013	0	0	0	110	110	110	110	110	110
Verão 2013/2014	150	70	120	150	70	120	20	110	120
Inverno 2014	0	0	0	130	130	130	130	130	130
Verão 2014/2015	161	73	115	161	73	115	161	73	115
Inverno 2015	0	0	0	130	130	130	130	130	130
Verão 2015/2016	150	70	120	150	70	120	0	105	80
Inverno 2016	0	0	0	130	130	130	130	130	130
Verão 2016/2017	150	70	120	150	70	120	150	70	120
Inverno 2017	0	0	0	150	115	90	150	115	90
Verão 2017/2018	150	115	90	0	0	0	0	0	0
Inverno 2018	0	0	0	150	120	75	150	120	75
Verão 2018/2019	150	120	75	0	0	0	0	0	0
Total	911	518	640	1411	1018	1140	1131	1093	1100

(1) Sistemas: 1. Monocultivo de arroz-pousio (testemunha, com preparo de solo); 2. SIPA arroz-pecuária de corte; 3. SIPA em rotação soja/arroz – pecuária de corte.

A quantidade de fertilizante utilizada foi calculada a partir da exportação de N, P e K considerando uma expectativa de rendimento de arroz, milho e soja de 10, 8 e 4 Mg ha⁻¹, respectivamente, de acordo com SBCS (2016). Além disso, considerou-se uma exportação de N, P e K na carcaça animal para uma produção de carne de 450 kg ha⁻¹ (Whitehead, 2000), resultando em uma quantidade total de nutrientes fornecidos anualmente de 150 kg N ha⁻¹; 115 kg P₂O₅ ha⁻¹ e 90 kg K₂O ha⁻¹.

Quanto ao momento da adubação, a segunda fase do experimento também difere da primeira. Enquanto que de 2013 a 2016 a adubação foi realizada tanto no inverno (pastagens) quanto no verão (cultivo de grãos), na segunda fase os sistemas receberam toda adubação na fase pastagem, com exceção do Sistema 1, que foi adubado na lavoura do arroz. Essa metodologia de adubação foi baseada no conceito da *adubação de sistema* (Farias et al., 2020), a qual tem como premissas de que, em sistemas de produção que não realizam revolvimento do solo (plantio direto), que estejam com fertilidade química do solo construída e sobretudo contém o componente animal em pastejo (principal agente reciclador), a adubação de reposição é realizada na fase da pastagem, potencializando a produção de forragem e o ganho animal, sem reduzir a produtividade do cultivo de grãos em sucessão, já que o animal exporta mínimas quantidades de nutrientes minerais na carcaça e, portanto, aumentando a eficiência de uso dos fertilizantes.

A adubação fosfatada e a potássica foram realizadas a lanço. A adubação nitrogenada, com ureia, em todos os sistemas foi realizada em duas ocasiões: nos Sistemas 2 e 3 quando as plantas de azevém atingem três folhas totalmente expandidas (75 kg ha⁻¹ de N) e no início de agosto, com seis folhas totalmente expandidas (75 kg ha⁻¹ de N); e, no Sistema 1, 100 kg ha⁻¹ de N em V₃-V₄ e 50 kg ha⁻¹ de N da diferenciação do primórdio floral (R₀), seguindo as recomendações técnicas para a cultura (SOSBAI, 2018).

5. Avaliações do protocolo experimental

Além das avaliações individuais realizadas em cada estudo proposto, o protocolo experimental conta com avaliações de rotina, sendo elas

relacionadas tanto à produção vegetal quanto à produção animal. Na produção animal foi avaliada a carga, o ganho médio diário (GMD) e o ganho por área. Para avaliar a produção de carne foram realizadas quatro pesagens ao longo do ciclo de pastejo. O GMD foi calculado pela diferença entre a última e a primeira pesagem, sendo realizadas quatro pesagens, dividida pelo número de dias de pastejo. A carga média animal de cada período de pastejo foi calculada pela adição do peso médio dos animais-teste, peso médio de cada animal regulador utilizado, multiplicado pelo número de dias que permanece em pastejo, dividido pelo número total de dias de pastejo. O ganho de peso total por hectare foi obtido pela multiplicação do número de animais pelo GMD dos animais-teste pelos dias de pastejo. Ainda no período de pastejo, foram determinadas a produção total de forragem no período hibernal e o resíduo vegetal deixado em cobertura, antecedendo o cultivo de grãos.

A amostragem para a determinação da massa de forragem e resíduo das culturas de grãos foi realizada em cinco pontos por parcela, utilizando-se quadros com 0,25 m². Nos cultivos agrícolas também foi avaliada a produtividade de grãos do arroz, em cinco subamostras por parcela, com área útil de 10 m² cada, totalizando uma área de 50 m² colhidos, corrigindo-se a umidade para 130 g kg⁻¹. Na soja, determinou-se o rendimento de MS na parte aérea no estádio R₄ e a produtividade de grãos, pela produção obtida em cinco subamostras por parcela, com área útil de 8 m².

Para avaliação da fertilidade do solo nos diferentes sistemas de produção, foram coletadas amostras de solo em outubro de 2018. As amostras foram compostas pela coleta de cinco subamostras por potreiro, nas camadas de 0–10 e 10–20 cm do solo. Após a coleta, as amostras foram armazenadas em sacos plásticos e levadas até o Laboratório de Solos do IRGA-EEA, onde foram secas em estufa de ar forçado (\approx 40°C), moídas, passadas em peneira de 2 mm para obtenção da fração terra fina seca ao ar (TFSA) e armazenadas em potes plásticos. Posteriormente, as amostras de solo foram submetidas a análises de pH em água (relação 1 / 1); teor MO do solo (Walkey-Black), cálcio, magnésio e AI trocável (KCl 1,0 mol L⁻¹), e P e K disponíveis (Mehlich 1), calculando-se também a CTC_{pH7,0}, saturação por bases e por AI, conforme metodologia descrita por Tedesco et al. (1995).

6. Histórico de produção vegetal, animal e atributos químicos do solo

Desde a implementação do experimento (safra 2013/2014) até a última safra avaliada (2018/2019), o Sistema 1 apresentou produções de resíduo variando de 8,3 a 11,2 Mg ha⁻¹, com apporte médio anual nos seis anos de 10,0 Mg ha⁻¹ (Figura 4). O Sistema 2 e o Sistema 3 apresentaram um aporte médio anual de 11,0 e 8,8 Mg ha⁻¹ de resíduos de parte aérea das plantas, respectivamente (Figura 4).

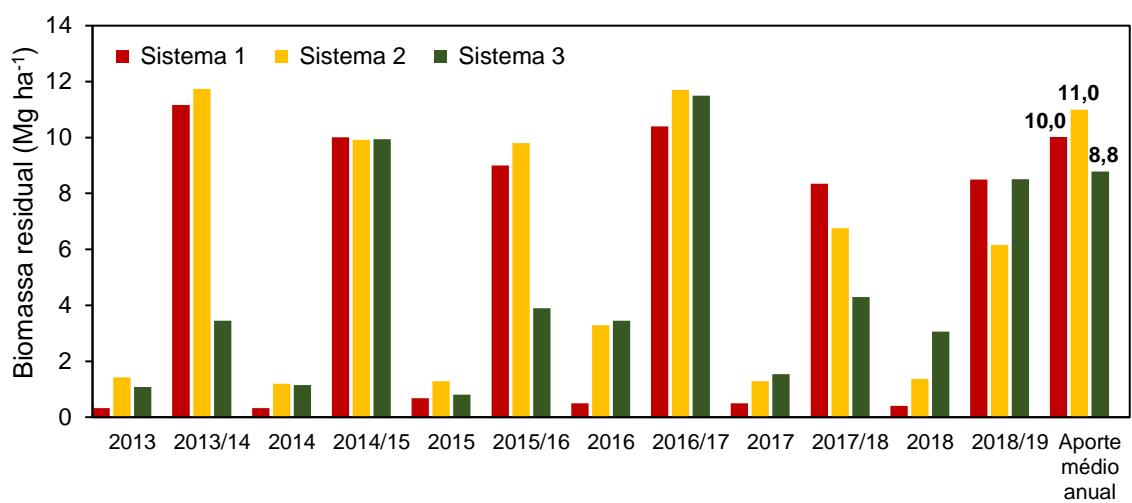


Figura 4. Biomassa residual de arroz, soja e forragem aportados ao final de cada ciclo de verão e inverno dos três sistemas de produção, desde o inverno de 2013 até a safra 2018/2019. Sistemas: 1. Monocultivo de arroz-pousio-arroz, com preparo de solo; 2. Arroz-azevém pastejado-arroz e 3. Arroz-azevém pastejado-soja, ambos em plantio direto.

A produção de carne nos sistemas pastejados variou de 101,3 a 423,5 kg ha⁻¹, com produção média dos seis anos de 215,6 e 273,9, nos Sistemas 2 e 3, respectivamente (Figura 5). As maiores produções de carne obtidas nos invernos de 2017 e 2018 podem ser decorrentes da mudança na filosofia de adubação, após a adoção da *adubação de sistema*. Embora a adubação fosfatada e potássica não tenha sido muito alterada, a quantidade adicionada de N aumentou em aproximadamente 20 kg N ha⁻¹. Por ser um nutriente requerido em grande quantidade pelas plantas, esse aumento pode ter favorecido o desenvolvimento inicial do azevém, sua taxa de acúmulo e, consequentemente, a lotação animal e os dias de pastejo.

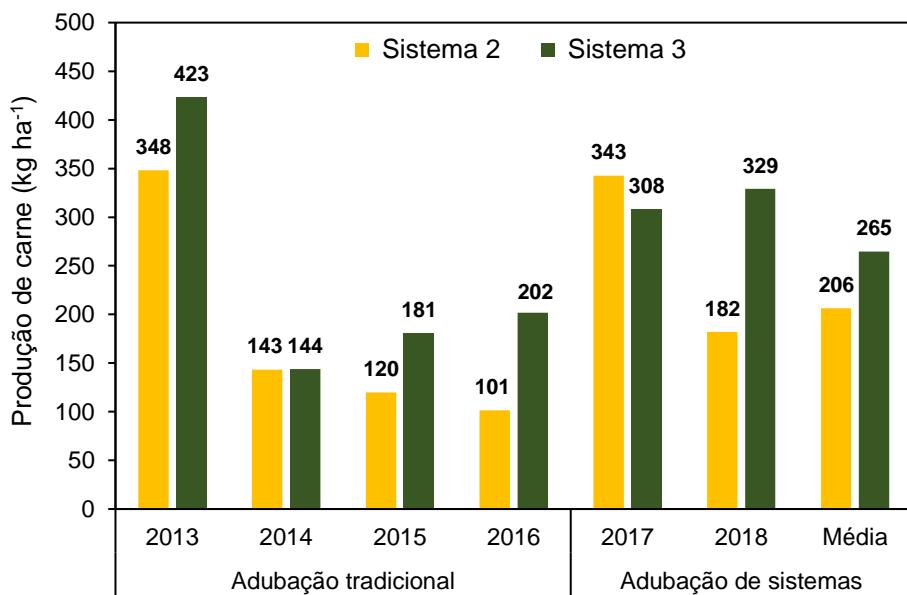


Figura 5. Produção de carne no período hibernal de 2013 a 2018 nos Sistemas 2 e 3 do experimento em estudo, sob adubação tradicional (2013 a 2016) e adubação de sistemas (2017 e 2018). Sistemas: 2. Arroz-azevém pastejado-arroz e 3. Arroz-azevém pastejado-soja, ambos em plantio direto.

Quanto à produtividade dos cultivos agrícolas, a primeira fase do experimento (2013/2014 a 2016/2017), com adubação realizada tanto nas culturas de grãos quanto nas pastagens, sempre contou com maiores produtividades de arroz nos Sistemas 2 e 3, quando comparado ao Sistema 1 (Figura 6). Embora o Sistema 1 tenha apresentado alta produtividade média de grãos ($10,4 \text{ Mg ha}^{-1}$), os Sistemas 2 e 3 apresentaram incrementos em produtividades de 8,9 e 16,4% em relação a esse sistema, com produtividades médias de $11,3$ e $12,1 \text{ Mg ha}^{-1}$, respectivamente. Além do Sistema 3 ter sido o que apresentou as maiores produtividades de arroz, também apresentou altas produtividades de soja no período avaliado, com média de $3,8 \text{ Mg ha}^{-1}$ (Figura 6).

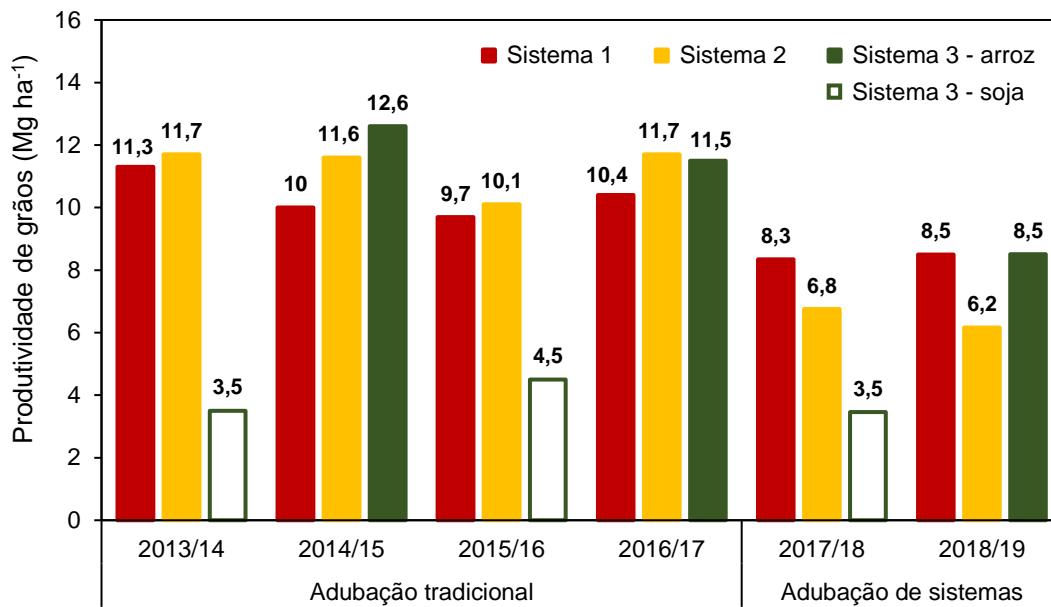


Figura 6. Produtividade de grãos de arroz e soja nos três sistemas de produção desde a safra 2013/2014 até a safra 2018/2019, sob adubação tradicional (no cultivo de grãos e na pastagem), ou adubação de sistema (somente na pastagem nos Sistemas 2 e 3 e no arroz do Sistema 1). Sistemas: 1. Monocultivo de arroz-pousio-arroz, com preparo de solo; 2. Arroz-azevém pastejado-arroz e 3. Arroz-azevém pastejado-soja, ambos em plantio direto.

A adoção da *adubação de sistema* na safra 2017/2018 fez com que se reduzisse a produtividade do arroz no Sistema 2. Nessa safra o arroz no Sistema 2 produziu 19% a menos que o Sistema 1 e, na safra 2018/2019, a redução foi de 27% (Figura 6). Na safra 2018/2019 o arroz no Sistema 3 apresentou a mesma produtividade ($8,5 \text{ Mg ha}^{-1}$) do que o Sistema 1, mesmo sem fornecer adubação nitrogenada, fosfatada e potássica no cultivo do arroz, demonstrando que o solo, nesse sistema, teve a capacidade de fornecer pelo menos 150, 120 e 75 kg de N, P₂O₅ e K₂O ha⁻¹, respectivamente, sem contabilizar o ganho em produção de carne proveniente da estação hibernal dos Sistemas 2 e 3.

A adoção dos diferentes sistemas alterou alguns dos atributos de fertilidade do solo ao longo do tempo. Na média da camada de 0–20 cm do solo, somente os Sistemas 2 e 3 aumentaram os teores de MO do solo, em 26,7 e 50%, respectivamente. O Sistema 1 apresentou redução de 6% no teor de MO do solo, e apresenta atualmente um teor de MO do solo 21% inferior ao Sistema 2 e 28% inferior ao Sistema 3, na camada de 0–20 cm (Tabela 2).

Tabela 2. Evolução de atributos químicos em duas camadas de solo em três sistemas de produção agrícola.

Sistemas	Camada	MOS⁽¹⁾	pH⁽²⁾	Ca⁽³⁾	Mg⁽³⁾	CTC⁽⁴⁾	Saturação por bases
	-- cm --	-- g kg ⁻¹ --		----- cmol _c kg ⁻¹ -----		----- % -----	
2013							
Sistema 1	0 – 10	0,20	5,5	3,2	2,1	9,3	58
Sistema 1	10 – 20	0,11	5,4	2,9	2,0	11,2	47
Média	0 – 20	0,16	5,4	3,1	2,1	10,2	52
Sistema 2	0 – 10	0,18	5,4	3,7	2,3	11,0	56
Sistema 2	10 – 20	0,13	5,3	3,0	1,9	10,8	47
Média	0 – 20	0,15	5,3	3,4	2,1	10,9	52
Sistema 3	0 – 10	0,18	5,5	3,4	2,1	10,4	54
Sistema 3	10 – 20	0,11	5,3	2,4	1,6	11,4	39
Média	0 – 20	0,14	5,4	2,9	1,9	10,9	47
Média Ano		0,15	5,4	3,1	2,0	10,7	50
2018							
Sistema 1	0 – 10	0,16	5,6	3,8	2,1	8,7	70
Sistema 1	10 – 20	0,14	5,7	4,5	3,1	10,4	73
Média	0 – 20	0,15	5,7	4,2	2,6	9,5	71
Sistema 2	0 – 10	0,21	5,7	4,6	2,5	10,0	71
Sistema 2	10 – 20	0,17	5,8	5,8	3,4	12,3	74
Média		0,19	5,8	5,2	3,0	11,2	72
Sistema 3	0 – 10	0,26	5,8	5,0	2,5	10,3	74
Sistema 3	10 – 20	0,16	5,7	3,9	2,3	8,7	71
Média	0 – 20	0,21	5,7	4,5	2,4	9,5	72
Média Ano	0 – 20	0,18	5,7	4,6	2,6	10,1	72

⁽¹⁾ Matéria orgânica do solo (Walkley-Black). ⁽²⁾ pH em água, relação 1:1. ⁽³⁾ Cálcio (Ca) e Magnésio (Mg) trocável (KCl 1 mol L⁻¹). ⁽⁴⁾ Capacidade de troca de cátions (CTC) a pH 7,0. Teste de Tukey ($p<0,05$): Letras minúsculas distinguem os sistemas de produção do arroz em cada ano; Letras maiúsculas distinguem os anos dentro de cada Sistema de produção do arroz. A inexistência de letras indica ausência de diferença estatística. Sistemas: 1. Monocultivo de arroz-pousio-arroz, com preparo de solo; 2. Arroz-a-pastejado-arroz e 3. Arroz-azevém pastejado-soja, ambos em plantio direto.

CAPÍTULO IV – SOYBEAN YIELD DOES NOT RELY ON MINERAL FERTILIZER IN ROTATION WITH FLOODED RICE UNDER A NO-TILL INTEGRATED CROP-LIVESTOCK SYSTEM¹

1. Introduction

Soybean can be grown in a range of environments including uplands and lowlands. Brazil is the largest rice producing country outside Asia, with RS state alone being responsible for 65% of the country production. In RS state, rice is mostly grown in lowland flooded paddy fields in monoculture (Jackson et al., 2005). Rice monoculture can present issues with soil degradation, increasing pest and disease pressure, while consequently reducing yields. One option to diversify this system is via the inclusion of soybean, ultimately improving soil conditions and breaking pest, disease, and weed cycles (Garcia et al., 2020).

Paddy-upland rotation is an important system for sustainable agriculture (Hou et al., 2018). This system can alter either soil physical or chemical properties, or improve soil quality and fertility, and optimize rice yields (Zhou et al., 2014; Hartmann et al., 2015). The benefits of legumes in rotation are not only caused by biological N fixation but also by increased nutrient availability through higher microbial carbon use efficiency from legume residues that increase the soil organic matter (SOM) content, which could help to sustain the long-term productivity of cereal-based cropping systems (Veloso et al., 2018;

¹ Artigo publicado no periódico *Agronomy* (Setembro de 2020)
DOI: 10.3390/agronomy10091371

Singh et al., 2020). In addition, both rice and soybean benefit in this environment, which can be achieved under an integrated crop-livestock system (ICLS) (Peterson et al., 2019; Denardin et al., 2020). These systems enhance the nutrient cycling process and increase both soil phosphorus (P) and potassium (K) supplies (Assmann et al., 2017). Under a no-till ICLS, the flooded rice efficiently utilizes N, P, and K; therefore, the flooded rice under a no-till ICLS has low probability to respond to P and K fertilization (Denardin et al., 2020).

Soybean is considered to be a highly responsive crop to P fertilization and nutrient application rates have increased grain yield in subtropical soils, especially under available P content below the appropriate thresholds and no-till conditions (Bharati et al., 1986; SBCS, 2016; Antonangel et al., 2019). In addition, rainfed crops, such as soybean, following flooded rice in rotation often require P fertilization. The cultivation of upland crops in the first year after flooded rice is often characterized by poor growth and low yield, due to the lower soil P availability after long flooding periods (Griffin et al., 1983). In addition, soybean often responds to K application, because this is one of the most demanded nutrients by this crop. According to Bharati et al. (1986), soybean responded significantly to K application even when the soil test levels were considered to be medium to high under a no-till condition. However, we hypothesized that, due to the nutrient cycling process improved by winter grazing, soybean yield response could be smaller than expected to P and K fertilization under a no-till ICLS, even in rotation with flooded rice. The evaluation of this hypothesis is necessary to improve the soybean fertilization management in lowlands, since knowledge on this issue is still scarce.

The adoption of no-till often causes a gradient of nutrient (especially P and K) concentrations in the soil profile, due to the lack of soil disturbance. The local official recommendation system of fertilization indicates that soil sampling under no-till adoption should focus on the 0–10 cm instead of 0–20 cm soil layer for upland fields (SBCS, 2016). Since flooded rice is mostly cultivated under soil disturbance, the recommendation is to sample the soil at 0–20 cm (SBCS, 2016). In addition, many researchers have proven the importance of evaluating other soil chemical properties than available P and K contents for soybean yield (Bharati et al., 1986; Peterson et al., 2019).

Limited data exist studying soybean response to P and K fertilization in rotation with flooded rice in no-till paddy fields under an ICLS. In addition, the relationship between soybean yield and soil chemical properties, sampled in different layers, is also poorly explored. Thus, the objectives of this study were to evaluate (i) the soybean response to different P and K fertilization levels and (ii) the relationship between soybean yield and soil chemical properties sampled in different soil layers, in a no-till ICLS, in subtropical lowlands.

2. Materials and Methods

2.1. Site description and historical characterization of the experimental area

Field studies were conducted as an on-farm experiment during the 2015/2016 and 2017/2018 soybean cropping seasons at Corticeiras Farm, located in Cristal County, RS State, Brazil ($31^{\circ}37'13''$ S, $52^{\circ}35'20''$ W, 28 m a.s.l.). The regional climate is a warm humid summer climate, classified as Cfa, according to Koeppen. The local annual average temperature is 18.3°C , and the annual cumulative rainfall is 1522 mm (Figure 7). The soil is poorly drained and classified as Albaqualf (Soil Survey Staff, 2010), with a sandy clay loam texture (24, 23, and 53% of clay, silt, and sand, respectively).

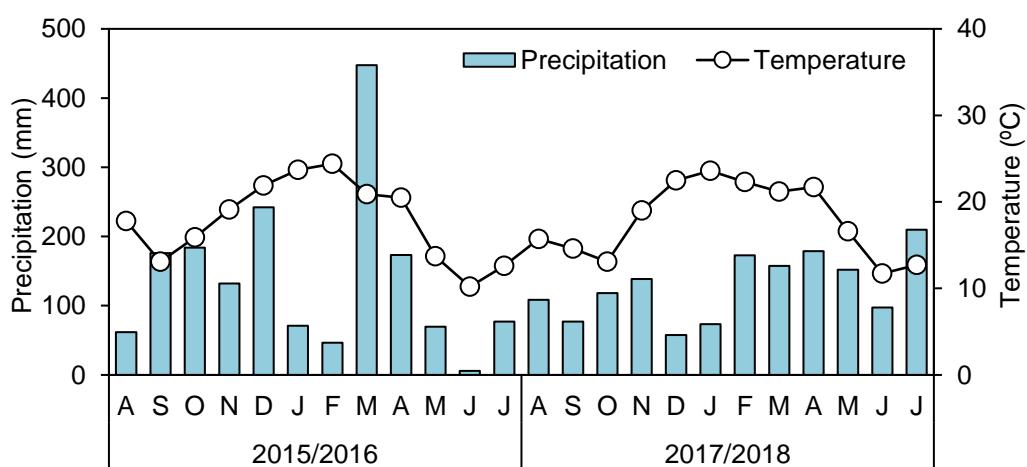


Figure 7. Monthly average precipitation and temperature (from August 2015 to July 2016 and from August 2017 to July 2018) in Cristal County/RS State, site of the experimental area of integrated crop-livestock system in southern Brazil. Source: National meteorological institute, Brazil.

The experimental area had been cultivated with flooded rice followed by fallow since the 1960s. The last rice cropping season was in 2009, followed by a fallow period until March 2013, when soil samples were collected for chemical characterization. In April 2013, soil acidity was corrected through lime incorporation (three heavy disks) at a rate of 4.5 Mg ha^{-1} (total neutralization relative power of 70%), determined according to SBCS (2016), to increase the 0–20 cm soil layer to pH 6.0.

After soil correction, five production systems involving the cultivation of flooded rice were established in an area of 18 hectares, in a randomized complete block design with three replications. One of five potential systems was selected for the experiment based on its historically high rate of soybean cultivation under an ICLS and no-tillage with soybean/flooded rice crop rotation during the summer season and annual ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam.) under beef cattle grazing during the winter season. The three ICLS plots were blocked by soil chemical properties. Since the experiment was initiated, flooded rice was cultivated during the 2014/2015 and 2016/2017 cropping seasons and soybean was cultivated during the 2013/2014, 2015/2016, and 2017/2018 cropping seasons, with pasture grazing in all winter seasons. Soybean was sown (single disk opener planter type) with a plant density of 31 plants per m^2 , with a 45 cm row spacing. The soybean sowing and harvest occurred in November and April, respectively, and the same cultivar was sown, TEC IRGA 6070 RR, during all cropping seasons. The IRGA 424 rice cultivar was used during both cropping seasons, seeded at a density of 100 kg ha^{-1} , with a 17 cm row spacing. The rice sowing (single disk opener planter type) and harvest occurred in October and April, respectively, during both cropping seasons.

Angus steers (*Bos taurus taurus*) with initial body weight of 200 kg and seven months of age were used for grazing in 2013, 2014, 2015, 2016, and 2017 winter seasons. Average pasture height was 15 cm and average stocking was $831 \pm 114 \text{ kg live weight ha}^{-1}$, simulating a cattle fattening or finishing system during 62 ± 15 days of grazing. The cattle's feeding was forage-based with only mineral salt provided. A continuous stocking was adopted (with a minimum of three test steers) and put-and-take animals were used to maintain targeted sward

height. Annual ryegrass was re-sowed at a density of 30 kg ha⁻¹ using BRS Ponteio cultivar.

The ryegrass fertilization was according to SBCS (2016) recommendation averaging 126-119-112 kg ha⁻¹ of N-P₂O₅-K₂O annually from the 2013 to 2017 winter seasons. In the 2013/2014 summer season, the soybean fertilization was according to SBCS (2016) representing 20-110-120 kg ha⁻¹ of N-P₂O₅-K₂O. The rice fertilization in the summer seasons was according to CQFS RS/SC (2016) recommendation, representing 150-70-120 kg ha⁻¹ of N-P₂O₅-K₂O, during the 2014/2015 and 2016/2017 cropping seasons.

2.2. Initial soil fertility characterization and soybean studies

The initial soil fertility characterization of the experiment was conducted by sampling 5 to 6 points per block in October 2015, prior to the installation of the first soybean cropping season. Each point represented a composite sample from six subsamples randomly collected around the point and separated into the following two soil layers: 0–10 and 10–20 cm. Composite samples were mixed before the soil analyses.

During the 2015/2016 cropping season, a homogeneous area of 25 × 25 m within each block was selected, split into five 5 × 5 m plots that were, then, randomly assigned to different fertilizer treatments. Fertilizer treatments were applied in October 2015, with levels based on soybean yield expectation, according to SBCS (2016). Fertilizer treatment corresponded to different P and K fertilizer rates (in kg ha⁻¹ of N-P₂O₅-K₂O) as follows: (a) no fertilizer application (0-0-0), (b) expected yield of 2 Mg ha⁻¹ (0-15-20), (c) expected yield of 3 Mg ha⁻¹ (0-30-45), (d) expected yield of 4 Mg ha⁻¹ (0-45-70), and (e) expected yield of 5 Mg ha⁻¹ (0-60-95). Fertilizer sources used were single superphosphate (18% P₂O₅) and potassium chloride (60% K₂O). The P and K fertilizer rates were manually applied after soybean sowing.

Due to the results obtained in the first soybean experiment (2015/2016 cropping season), another experiment was carried out during the 2017/2018 cropping season. Thus, soybean was not fertilized during the 2017/2018 cropping season, and the relationship between yield and soil chemical properties, sampled

in 0–10 and 0–20 cm soil layers, was evaluated at specific points at the block level.

For the evaluation of the relationship between soybean yield and soil chemical properties, five samples were collected per each plot at the crop sowing stage, totaling 15 soil samples (samples were composed of three subsamples) for each layer (0–10 and 0–20 cm). The sampling point was identified for subsequent soybean harvesting and yield analysis.

2.3. Soil and Plant Analyses

Soil samples were stored in plastic bags and transported to the Federal University of Rio Grande do Sul Soil Fertility Research Laboratory. The samples were dried in a forced-air circulation oven at 50 °C, ground, sieved through 2 mm mesh, and analyzed. The soil chemical properties used for the soil fertility evaluation were pH in water, SOM content (Walkley-Black method), available P and K (extracted by Mehlich-1), exchangeable calcium (Ca) and magnesium (Mg) (extracted by 1.0 mol L⁻¹ KCl), cation exchange capacity at pH 7.0 (CEC_{pH 7.0}), and base and aluminum (Al) saturation.

Exchangeable Al was determined by titration with 0.0125 mol L⁻¹ NaOH solution, Ca and Mg by atomic absorption spectrometry, K by flame photometry, and P by colorimetry. Potential acidity (H + Al) was calculated through the SMP (Shoemaker, MacLean, and Pratt) index. The sum of bases was obtained by the sum of Ca, Mg, and K. The CEC_{pH7.0} was calculated by sum of bases + (H + Al); base saturation (V%) was calculated using the relation, V% = 100 × sum of bases/CEC_{pH7.0}; and Al saturation (m%) was calculated using the relation, m% = 100 × Al/(sum of bases + Al) (SBCS, 2016).

During both soybean cropping seasons (2015/2016 and 2017/2018), harvests were performed by hand from 4.5 m² per plot. Samples were threshed, cleaned, and weighed. Grain moisture was determined and adjusted to 130 g kg⁻¹.

2.4. Statistical analyses

Analyses were performed using the SAS statistical package® v.9.4 (Statistical Analysis System Institute, Cary, North Carolina). A linear mixed-effect

analysis of variance (ANOVA) model was used to assess the response of soybean yield to different P and K fertilizer rates, with fertilizer treatment (fixed) and block (random) as the explanatory variables. Model residual assumptions were checked with the Shapiro–Wilk normality test and Levene's homogeneity of variance test. Fertilizer treatment means were compared using Tukey's test. All tests were performed at a significance level of alpha = 0.05.

Mixed-effect linear regression models were used to explore the relationships between soybean yield and individual soil chemical properties in the 0–10 cm and 0–20 cm soil layers, during the 2017/2018 cropping season, using the lme function from the nlme package in R (R Core Team, 2020; Pinheiro et al., 2021). Regression models were fit using all data ($n = 15$) and subsamples within the plots were properly identified and modeled, with Kenward–Roger degrees of freedom approximation method. Due to the low number of observations, models were assessed using both statistical significance and coefficient of determination (R^2).

3. Results and Discussion

3.1. Soil fertility characterization and soybean yield response to P and K fertilization

In October 2015, before the first soybean cropping season experiment installation, the experimental area presented an available P and K, exchangeable Ca and Mg, and base saturation levels in 0–10 cm soil layer of 28.1 and 135.5 mg kg⁻¹, 5.6 and 2.8 cmolc kg⁻¹, and 70.9%, respectively (Table 3). The soil nutrient levels under a no-till ICLS were classified as medium for P content (20–30 mg kg⁻¹) and high for K content (91–180 mg kg⁻¹) in the 0–10 cm soil layer, according to fertilizer recommendation system for soybean in Brazilian subtropical soils.

Table 3. Soil fertility variables (0–10 and 10–20 cm layer), for October 2015, in a soybean-flooded rice rotation under no-till integrated crop–livestock system in paddy fields of a Brazilian subtropical region.

Soil layer	SOM ⁽¹⁾	pH ⁽²⁾	P ⁽³⁾	K ⁽³⁾	Ca ⁽⁴⁾	Mg ⁽⁴⁾	CEC ⁽⁵⁾	m ⁽⁶⁾	V ⁽⁷⁾	Clay
cm	%		mg kg ⁻¹		cmolc kg ⁻¹				%	
0–10	2.3 ± 0.2	5.4 ± 0.1	28.1 ± 5.6	135.4 ± 12.3	5.6 ± 0.5	2.8 ± 0.2	12.2 ± 0.9	0.7 ± 0.4	70.9 ± 2.5	17.7 ± 0.5
10–20	1.5 ± 0.2	5.4 ± 0.1	10.7 ± 2.4	78.0 ± 9.0	4.5 ± 0.3	2.5 ± 0.2	11.3 ± 0.7	1.5 ± 0.3	62.8 ± 2.6	22.7 ± 0.7
Average	1.9	5.4	19.4	106.7	5.0	2.7	11.7	1.1	66.8	20.7

1, soil organic matter (Walkley–Black method); 2, pH in water, 1:1 ratio; 3, Available phosphorus (P) and potassium (K) (Mehlich 1 method); 4, Exchangeable calcium (Ca) and magnesium (Mg) (KCl 1 mol L⁻¹ method); 5, cation exchange capacity at pH 7.0; 6, Al saturation; 7, base saturation. The values are expressed as arithmetic mean ± standard error of the mean.

Usually, rainfed crops following flooded rice respond to P fertilization (Fatondji et al., 2009). However, during the 2015/2016 cropping season, soybean yield did not respond to P and K fertilization with average yield across treatments of ~4.5 Mg ha⁻¹ (Figure 8). The lack of soybean yield response could be related to the greater cycling of P and K under an ICLS, favored by fertilized pasture residues and cattle manure (Assmann et al., 2017; Denardin et al., 2020). The high pasture fertilization rates could have led to an accumulation of nutrients in the soil, contributing to a reduction in the response to mineral fertilizer in soybean. In addition, livestock manure has an overall greater bioavailability of nutrients in the soil than the crop residue (Fatondji et al., 2009). According to Ning et al. (2020), due to the higher P use efficiency of the manure relative to P fertilizer, the addition of manure could reduce the requirement of P fertilizer. Regarding the K fertilization, in addition to the K cycling from animal and pasture residues, soil K was high (Table 3), justifying the lack of soybean yield response.

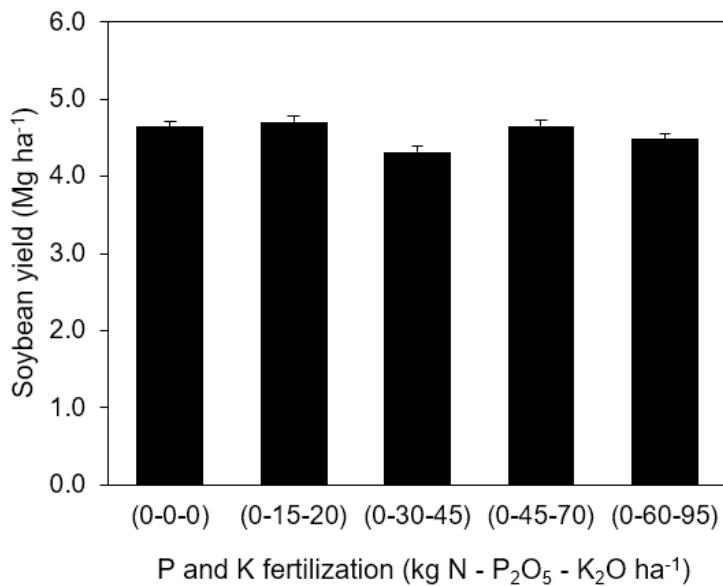


Figure 8. Soybean yield affected by different P and K fertilization rates in an integrated crop–livestock system in the Brazilian subtropical region, during the 2015/2016 cropping season. The fertilization rates were based on different soybean yield expectations, according to SBCS (2016), being (as kg ha⁻¹ of N-P₂O₅-K₂O) 0-0-0, 0-15-20, 0-30-45, 0-45-70, and 0-60-95 for control, 2, 3, 4, and 5 Mg ha⁻¹, respectively. ns, no significance ($p>0.05$). Error bars represent standard error of the mean ($n = 3$).

Denardin et al. (2020) found a lack of flooded rice yield response to P and K fertilization under a no-till ICLS. In contrast, under the traditional flooded rice Brazilian system (rice fallow, under soil disturbance), rice continues to respond to P and K fertilization, even though both systems have similar levels of soil P and K supplies (Denardin et al., 2020). The system with animals exports a minimum amount of nutrients in the meat, with all nutrients applied to the pasture via fertilization released to the following crop in the rotation in the form of plant residues, dung, and urine, not identified by traditional soil chemical analyses (Assmann et al., 2017; Alves et al., 2019). Thus, the use of pasture fertilization and cattle grazing during the winter season in lowlands ensures high grain yields and reduces the fertilization requirements of soybean (Figure 8). Therefore, in these systems, the fertilization regimes must be adjusted and probably the supply of mineral fertilizer for soybean is not necessary.

3.2. Relationship between soybean yield and soil chemical properties

Soybean grain yield, during the 2017/2018 cropping season, averaged 3.5 Mg ha⁻¹, ranging from 2.7 to 4.2 Mg ha⁻¹. The soil available P content

remained below the critical level (30 mg kg^{-1}) during the 2017/18 cropping season, on average 23 mg kg^{-1} and ranging from 8.6 (very low P content) to 53 mg kg^{-1} (high P content) (Figure 9). The available P content in the subsurface soil layer (5 mg kg^{-1}) was on average 77% lower than the $0\text{--}10 \text{ cm}$ soil layer and presented a CV of 38%. Soybean yield and soil nutrients at the $0\text{--}10 \text{ cm}$ and $10\text{--}20 \text{ cm}$ soil layers were not correlated. However, a large coefficient of determination (R^2) value (0.69) was observed when relating soybean yield and soil available P content at the $10\text{--}20 \text{ cm}$ soil layer. This large R^2 in spite of a nonsignificant slope was the result of few observations at the plot level, which decreased statistical power. Therefore, a larger number of samples would be needed to increase statistical power and find significance in regression. Each unit of available P in the $10\text{--}20 \text{ cm}$ soil layer increased 153 kg ha^{-1} of soybean yield, whereas in the $0\text{--}10 \text{ cm}$ layer it increased only by 20 kg ha^{-1} (Figure 9). The lower relationship between soybean yield and the available P content in the topsoil ($0\text{--}10 \text{ cm}$ soil layer) ($R^2=0.36$) could be due to 80% of the samples presenting P content below the critical level ("very low", "low" or "medium" P content (Figure 9) (SBCS, 2016). The mechanisms of vertical movement of P in the soil profile by diffusion are closely related to soil physical and hydraulic properties (Cox et al., 2003; SBCS, 2016). Therefore, improvements in soil physical and hydraulic conditions can potentially help with root growth and exploration, bringing water and nutritional benefits to soybean plants (Cox et al., 2003).

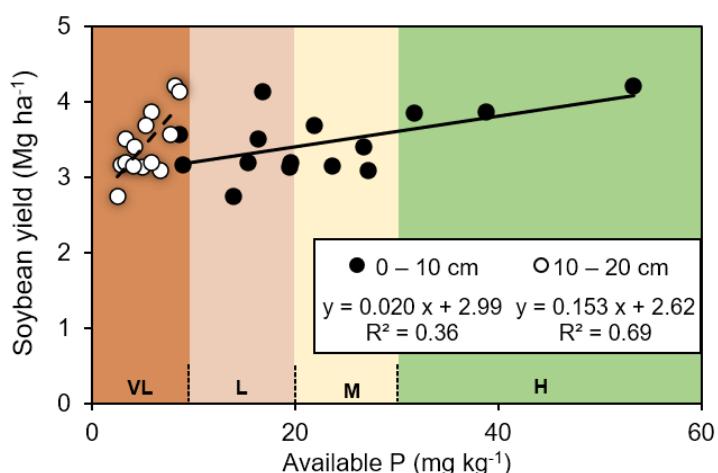


Figure 9. Relationship between soybean grain yield and available phosphorus (P) in $0\text{--}10$ and $10\text{--}20 \text{ cm}$ soil layers, in an integrated crop-livestock system in the Brazilian subtropical region, during the 2017/2018 cropping season. The highlighted color ranges corresponds to the bands of interpretation of soil available P content, being very low (VL, $\leq 10.0 \text{ mg kg}^{-1}$), low (L, $10.1\text{--}20.0 \text{ mg kg}^{-1}$), medium (M, $20.1\text{--}30.0 \text{ mg kg}^{-1}$), and high (H, $30.1\text{--}60.0 \text{ mg kg}^{-1}$), considering

the 0–10 cm soil layer and soybean cultivation in a soil with texture class 4 (clay content ≤ 20%) (SBCS, 2016).

Similar to P, K also presented high variability (CV of 33%) within the soil surface, ranging from 46 to 138 mg kg⁻¹ (Figure 10), and averaging 95 mg kg⁻¹ (very high K content). In addition, almost every sample was above the critical K level (60 mg kg⁻¹), explaining the lack of relationship between yield and this nutrient (Figure 10) (SBCS, 2016).

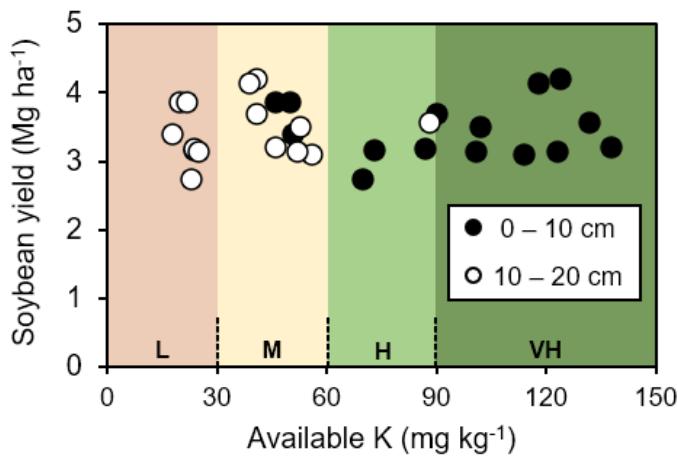


Figure 10. Relationship between soybean grain yield and available potassium (K) in 0–10 and 10–20 cm soil layers, in an integrated crop–livestock system in the Brazilian subtropical region, during the 2017/2018 cropping season. The highlighted color ranges corresponds to the bands of interpretation of soil available K content, being very low (VL, ≤30 mg kg⁻¹), low (L, 31–60 mg kg⁻¹), medium (M, 61–90 mg kg⁻¹), high (H, 91–180 mg kg⁻¹), and very high (VH, >180 mg kg⁻¹), considering the 0–10 cm soil layer and soybean cultivation in a soil with CTC_{pH7.0} content from 7.6–15.0 mg kg⁻¹ (SBCS, 2016).

Native soil P and K supply have a high CV in the soil, with values exceeding 35%. In addition to this variation, the manure (dung and urine) deposition by grazing animals is inconsistent and non-uniform (Augustine and Frank, 2001). However, variation of both quantity and quality of plant residues is also important due to a differential release of nutrients. This, combined with the return of nutrients supplied to the pasture via animal manure and plant residues, could explain the lack of response of soybean to P and K fertilization and the lower dependence on the use of fertilizers in soybean (Figure 8).

The relationship between SOM and pH relative to soybean yield was higher considering the 10–20 cm soil layer, with R² values of 0.35 for soil pH and 0.27 for SOM (Figure 11a,b). From a pH standpoint, soil acidity directly affects soybean yields, mainly by regulating the availability of many nutrients and the N²

fixation process (Lin et al., 2012). However, the soil pH in the current study averaged 5.7 (medium), which was unlikely to negatively affect soybean under no-till (SBCS, 2016). The SOM content presented an average of 2.6% in 0–10 cm soil layer, during the 2017/2018 cropping season, classified as a medium content (Figure 11b) (SBCS, 2016). Although the SOM content is very related to the N availability, it is believed that in this yield range (up to 4.5 Mg ha⁻¹) soybean obtains most of the N via biological N fixation (Ciampitti et al., 2018). Therefore, possibly this correlation of both pH and SOM in subsurface is related to physical and hydric soil properties, such as aggregation, porosity, and water retention (Cox et al., 2003).

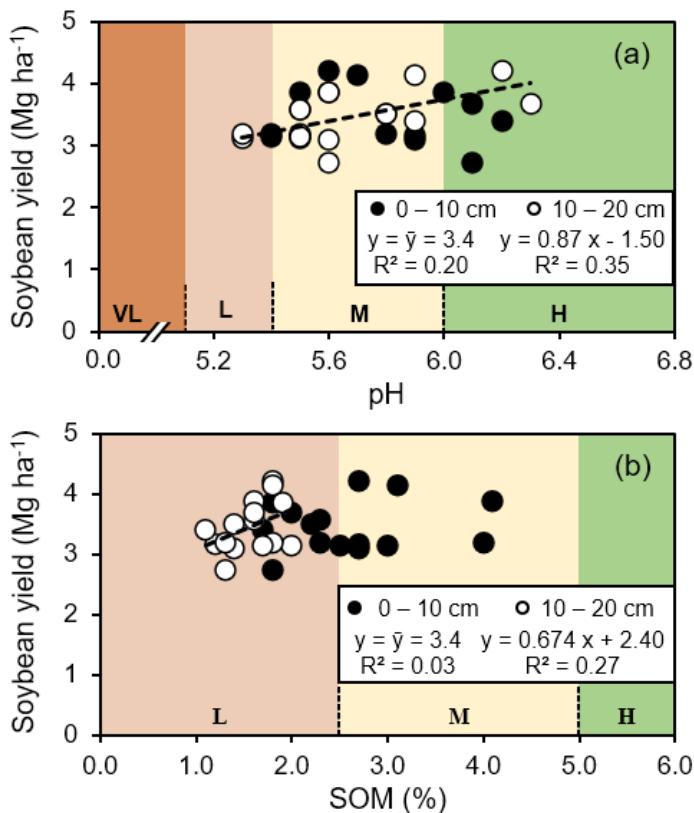


Figure 11. Relationship between soybean grain yield and (a) soil pH and (b) soil organic matter (SOM) content in 0–10 and 10–20 cm soil layers, in an integrated crop–livestock system in the Brazilian subtropical region, during the 2017/2018 cropping season. The highlighted color ranges correspond to the bands of interpretation of soil chemical properties, according to SBCS (2016). pH: very low (VL, ≤ 5.0), low (L, 5.1–5.4), medium (M, 5.5–6.0), and high (H, > 6.0), considering the 0–10 cm soil layer. SOM: low (L, $\leq 2.5\%$), medium (M, 2.6–5.0%), high (H, $> 5.0\%$).

Franzluebbers et al. (2001) suggested that pore connectivity could be positively influenced by greater SOM content in grazed systems, in an ICLS. According to Williams and Weil (2004), the soybean roots used the root channels

left by the decomposition of the roots of previously cultivated cover crops, improving crop productivity. This effect can be enhanced by changing the root structure of pastures, which, under grazing stimulation, invest more energy in developing roots (Reeder and Schuman, 2002). Our results are supported by Denardin et al. (2019), who found an improvement of physical soil properties due to the effect of improvement in SOM (Figure 11b), providing better timing/release of nutrients and enhancing water retention, deeper soybean root development and, consequently, greater soybean yields.

The soil physical properties in lowlands are very important, mainly because they regulate water availability for crops (Fiorini et al., 2018). In this sense, although flooded rice cultivation normally affects soil physical properties negatively, no-till and ICLS adoption have proven beneficial practices for improving these attributes, mainly in deeper layers (Reeder and Schuman, 2002; Tran Ba et al., 2016; Ciampitti et al., 2018). In addition, Tran Ba et al. (2016) demonstrated that cropping systems comprised of rice and upland crops such as soybean improved soil physical properties as compared with long-term intensive monoculture of rice.

In addition to the improvement related to physical and hydric soil properties, SOM and pH are also closely related to soil biological fertility. Soil microorganisms mediate a number of important soil processes related both to the availability of water and nutrients for plants (Lavelle and Spain, 2001). In this case, the benefit of no-till adoption in paddy fields for improving soil quality through increases in SOM is already known (Denardin et al., 2019). These benefits can be improved under crop rotations and animal grazing, provided mainly by improving the soil biodiversity and microbial activity (Martins et al., 2017).

The variation of the other soil chemical properties did not influence the soybean yield, in any soil layers assessed. All samples in the 0–10 cm soil layer presented high exchangeable Ca and Mg content, on average 5.0 and 2.5 cmolc kg⁻¹, respectively. Even five years after liming, the base saturation and Al saturation are still at adequate levels for soybean growth (SBCS, 2016) The average of base saturation and of Al saturation, found in the 0–10 cm soil layer, were 73.7% and 1.25%, respectively. As verified by Martins et al. (2014), an ICLS is more efficient in the use of nutrients such as Ca and Mg, avoiding their losses.

This could explain the high soil nutrient levels, the slow soil re-acidification, and the lack of a relationships between soybean yield and these soil chemical properties (Martins et al., 2014).

4. Conclusions

This study was one of the first attempts to elucidate the role of fertilization, soil characteristics, and depth of soil diagnostic layer in soybean yields under a lowland no-till ICLS. This study contributes information supporting a more sustainable use of the subtropical lowlands, improving their soil fertility and diversifying cash crops, based on a conservation management system, such as no-till and ICLS.

Our results showed that crop rotation and ICLS adoption under no-till reduce the soybean reliance on mineral fertilizer prior to cropping. The supply of P and K fertilizer did not promote a response in soybean yields, even with soil P levels below the critical threshold in the 0–10 cm soil layer. Therefore, the fertilization regimes must be adjusted and probably the supply of mineral fertilizer for soybean is not necessary under a lowland no-till ICLS. Hence, in these systems, the P and K removed in soybean seeds can be replaced during the pasture phase, enhancing forage and animal production.

In addition, there is no relationship between soybean yield and most of the soil chemical properties in the 0–10 cm layer, with a large proportion of the yield accounted for by changes in available P, followed by pH and SOM in subsurface soil (10–20 cm layer). In synthesis, even after five years of no-till adoption, it is important to monitor and to access soil fertility in deeper soil layers (10–20 cm soil layer). New calibration studies need to be conducted in lowland soils used by paddy fields and rainfed crops under no-till to redefine the right soil layer to be sampled for improving the nutrient diagnosing recommendations.

The goal of this study was to evaluate soybean phases under an ICLS rotation, therefore, the different analyses were limited to data from a single growing season. The results reported, herein, are novel and provide direction for soybean nutrient management under an ICLS, yet they should be interpreted within the context of the environment and year of measurements. Future studies

should address this gap by conducting similar experiments at a larger number of sites and over more years.

CAPÍTULO V – FERTILIZATION EFFECTS ON SOIL MICROBIAL COMPOSITION AND NUTRIENT AVAILABILITY IN INTEGRATED RICE-LIVESTOCK PRODUCTION SYSTEMS²

1. Introduction

Rice is one of the world's most important food crops. The current trend of rice production represents a global change phenomenon. Rice-based agricultural systems are shifting from specific to diversified production systems worldwide (Foley et al., 2005; Becker and Angulo, 2019). In subtropical environments, recently diversified flooded rice-based systems have been using the winter season traditionally kept in temporary fallow for cover crops (Yu et al., 2014; Zhu et al., 2012) and livestock production. When implemented in pastures, this management strategy characterizes an ICLS (Carlos et al., 2020; Denardin et al., 2020).

ICLS are important strategies to improve both economic and environmental sustainability in highly specialized croplands, such as paddy fields (Martins et al., 2017; Carlos et al., 2020). The soil fertility improvement and greater availability of nutrients in ICLSs reduce the mineral fertilizer requirements of flooded rice (Denardin et al., 2020). Upland crop rotation with flooded rice in the summer season, also known as paddy-upland rotation, has been an important

² artigo submetido ao periódico *Applied Soil Ecology* em março de 2021.

strategy for further intensification and diversification of lowland production systems (Hou et al., 2018).

The introduction of legumes in paddy-upland rotations can modify soil physical and chemical properties while improving soil health and maximizing rice yields (Zhou et al., 2014; Hartmann et al., 2015). The benefits of legumes in rotation are due not only to biological N fixation but also to improved soil fertility through SOM increments (Zhu et al., 2012; Cotrufo et al., 2013; Yu et al., 2014). Crop rotation may improve the long-term productivity of cereal-based cropping systems (Singh et al., 2002; Yu et al., 2014), mainly by their effects on soil microbial activity (Hou et al., 2018). The greater microbial C use efficiency from legume residues (Cotrufo et al., 2013; Veloso et al., 2018) can increase the SOM turnover.

Crop rotation affects soil microbial community composition mainly due to differences in the quality and quantity of the crop residue returned to the soil (Martinez-Garcia et al., 2018; Pires et al., 2020). In terms of quality, the C / N ratio was mentioned as a key factor affecting the soil microbial community composition (Henriksen and Breland, 2002; Geisseler et al., 2011; Kamble and Bååth, 2016). Moreover, crop rotation may affect soil physico-chemical properties (Zhou et al., 2014; Hartmann et al., 2015). The addition of high-quality residue from legumes (low C / N ratio) favours bacterial dominance, whereas low-quality residue promotes fungal growth (Bossuyt et al., 2001; Kramer et al., 2012), which affects SOM turnover (Tian et al., 2015). Additionally, known as the 'priming effect' (Kuzyakov, 2000; Ge et al., 2012; Zhu et al., 2018), SOM mineralization can be stimulated both by labile C input from plant residues and by mineral fertilization (Chen et al., 2014a; Ge et al., 2017; Zhu et al., 2018; Liu et al., 2019; Zhao et al., 2019).

N and P are limiting nutrients for microbial biomass (MB) growth in paddy fields (Keller et al., 2005; Liu and Song, 2008; Geisseler et al., 2017). Likewise, K fertilization can promote the production and input of plant biomass and exudates, indirectly affecting MB (Geisseler et al., 2017). Therefore, mineral fertilization may directly impact the availability of these nutrients by affecting SOM mineralization (Böhme et al., 2005; Garcia-Pausas and Paterson, 2011; Ladha et al., 2011; Pan et al., 2014). Although field studies have shown that P and K fertilization can be avoided in rice cultivation under ICLS due to the lack of rice

yield response (Denardin et al., 2020), this mineral fertilization can be relevant to SOM turnover and the release of other nutrients, such as N.

Microbial residues are important soil C and N sources (Farrell et al., 2013; Kaiser et al., 2014; Bingham and Cotrufo, 2016) and are directly dependent on labile C and N pools in the soil (Wander, 2004; Lewis et al., 2011). In paddy fields, N bioavailability is associated with SOM turnover and is a crucial factor in determining flooded rice yield (Kader et al., 2013; Denardin et al., 2020). The assessment of N availability using methods sensitive to labile N pools (Drescher et al., 2020) may contribute for improving nutrient use efficiency and decreasing the use of mineral fertilizers. Potassium permanganate oxidizable carbon (POxC) represents a labile C pool sensitive to changes in soil management, composed of microbial C fractions and products of their decomposition (Weil et al., 2003).

The roles of microorganisms as drivers of N cycling in the soil (Dungait et al., 2012; Lehmann and Kleber, 2015; Hu et al., 2016) and the soil microbial community as an important temporary immobilizer of N (by specific microbial groups) (Frostegård et al., 2011) is not conceptually new. However, their application in integrated and diversified no-till paddy fields is still poorly explored. Since soil microorganisms have a C / N ratio of approximately 6–8 (Cleveland and Liptzin, 2007), a substantial C input via plant residues with a high C / N ratio (such as through flooded rice) may cause a stoichiometric imbalance and increase microbial N demand (N immobilization). This process may decrease flooded rice yield (Kumar and Goh, 1999; Denardin et al., 2019). Flooded soil limits SOM mineralization and N availability (Kögel-Knabner et al., 2010; Zhu et al., 2017). On the other hand, microbial turnover, death, and necromass generation tend to be high with large C inputs from residues (Kaiser et al., 2014; Cui et al., 2020).

We hypothesized that the rice-soybean rotation increases soil MB and modifies microbial community composition, favouring bacterial dominance, compared to those in flooded rice monocropping systems in the summer season. Such effect will be maximised by mineral P and K fertilization, increasing labile C and N pools in the soil (mediated by bacteria) and increasing the flooded rice yield in a no-till ICLS. The objectives of this study were to evaluate the effect of mineral P and K fertilization in no-till ICLS of continuous flooded rice and rice-soybean rotation on the: (*i*) soil microbial community composition, (*ii*) labile C and

N pools, (iii) relationship between microbial groups and labile N pools, and (iv) flooded rice yield in subtropical paddy fields.

2. Material and Methods

2.1. Site description and historical characterization of the experimental area

The field study was conducted in an on-farm experiment during the 2016/2017 and 2018/2019 flooded rice cropping seasons at Corticeiras Farm, located in Cristal County, RS State, Brazil ($31^{\circ}37'13"S$, $52^{\circ}35'20"W$, 28 m a.s.l.). The climate was classified as warm humid subtropical (Cfa), according to Köppen classification (Kottek et al., 2006). The local annual average temperature was 18.3°C , and the annual mean rainfall was 1522 mm. The soil was poorly drained and classified as Albaqualf (Soil Survey Staff, 2000), with a sandy clay loam texture (24, 23, and 53% of clay, silt, and sand, respectively).

The experimental area has been cultivated with flooded rice followed by a fallow period since the 1960s. The last rice cropping season was in 2009, followed by a fallow period until March 2013, when soil samples were collected for chemical characterization. In April 2013, soil acidity was corrected through lime incorporation (three heavy disks) at a rate of 4.5 Mg ha^{-1} (total neutralization relative power of 70%), determined according to SBCS (2004), to increase the pH of the 0–20 cm soil layer to 6.0.

Five production systems, including the cultivation of flooded rice, were established in an area of 18 hectares. The experiment was designed as randomized complete blocks, with three replications and subdivided plots. For the present study, only two of the five systems were used, especially because other studies (Denardin et al., 2020) have already investigated flooded rice and soybean responses to mineral fertilization in other systems. Both systems are characterized by ICLS under no-tillage, presenting annual ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam.) under beef cattle grazing during the winter season. However, one system is based on flooded rice monocropping in the summer season (ICLS-Rice) and the another is based on a soybean-flooded rice crop rotation (ICLS-Rice/soybean) during the summer season.

From the beginning of the experiment, flooded rice was cultivated in all the cropping seasons (from 2013/2014 to 2018/2019) in the ICLS-Rice system. In the ICLS-Rice/soybean system, flooded rice was cultivated in the 2014/2015, 2016/2017, and 2018/2019 cropping seasons, and soybean was cultivated in the 2013/2014, 2015/2016, and 2017/2018 cropping seasons, with ryegrass pasture grazed during winter in both systems. The IRGA 424 RI rice cultivar was used in all cropping seasons and seeded at a density of 100 kg ha^{-1} with a 17 cm row spacing. Rice sowing and harvest in both systems were in October and April, respectively. Soybean plant density was 31 plants m^{-2} with a 45 cm row spacing. Soybean sowing and harvest occurred in November and April, respectively. The same cultivar, TEC IRGA 6070 RR, was sown in all cropping seasons.

Neutered yearling steers (Angus) weighing approximately 200 kg were used for grazing in the 2013, 2014, 2015, 2016, 2017, and 2018 winter seasons. The average pasture height was 15 cm, and the average stocking rates were 852 ± 207 and $836 \pm 356 \text{ kg live weight ha}^{-1}$, for ICLS-Rice and ICLS-Rice/soybean, respectively. Cattle feeding was forage-based, with only mineral salt being provided. Continuous stocking was adopted (with a minimum of three test steers), and put-and-take animals were used to maintain the targeted sward height. Annual ryegrass was re-sown at a density of 30 kg ha^{-1} using the BRS Ponteio cultivar.

Ryegrass fertilization was performed according to the SBCS (2004) recommendation, averaging $126-119-112 \text{ kg ha}^{-1}$ of N-P₂O₅-K₂O annually from the 2013 to 2018 winter seasons. In the 2013/2014 and 2015/2016 summer seasons, soybean fertilization was performed according to SBCS (2004), representing $20-110-120 \text{ kg ha}^{-1}$ of N-P₂O₅-K₂O. The rice fertilization in the summer seasons was performed according to the SOSBAI (2018) recommendation, representing $150-70-120 \text{ kg ha}^{-1}$ of N-P₂O₅-K₂O in all cropping seasons except 2017/2018. In the 2017/2018 cropping season, neither soybean nor flooded rice received mineral fertilization.

2.2. Phosphorus and potassium fertilization treatments

In the 2016/2017 and 2018/2019 rice cropping seasons, two subplot treatments were designed in both systems to evaluate the rice yield response to

P and K mineral fertilization: 150-70-120 and 150-00-00, in kg ha⁻¹ of N-P₂O₅-K₂O, respectively. The P and K rates were based on the rice very high yield response to fertilization (SOSBAI, 2018). The fertilizer sources used were urea (45% N), single superphosphate (18% P₂O₅), and potassium chloride (60% K₂O). The P and K fertilizers were manually applied immediately after rice sowing. N was applied in both systems split into two applications: 67% at the V₃ phenological stage (immediately before flooding), and 33% at the V₈ phenological stage (Counce et al., 2000). The experimental subplot size was 5 by 5 m (25 m²).

2.3. Soil and plant analyses

In November 2018, during the 2018/2019 cropping season, soil samples were collected 20 days after the first N fertilization and rice flooding, immediately before the second N fertilization. Five sub-samples of each plot were randomly collected in the 0–10 cm soil layer. The soil samples were stored in plastic bags and transported to the Soil Fertility Research Laboratory of the Federal University of Rio Grande do Sul. Part of the samples was dried in a forced-air circulation oven at 50°C, ground, and sieved through 2-mm mesh. The another part was freeze-dried and kept refrigerated (< 5°C) for soil microbial community composition evaluation.

2.3.1. Soil and plant analyses

PLFA analysis was performed with modifications to the original procedure (White and Ringelberg, 1998). Total lipids were extracted by 10 mL of methanol, 5 mL of chloroform, and 4 mL of phosphate buffer (pH 7.4) from 5 g freeze-dried soil (Figure 12A). Phospholipids were isolated from neutral lipids and glycolipids by using silicic acid chromatography columns and eluted with methanol (Figure 12B). The phospholipids were then saponified by KOH, methylated to fatty acid methyl esters, and analysed by a Thermo Scientific Trace GC-ISQ mass spectrometer equipped with a DB5-MS column (30 m × 250 µm in diameter × 0.25 µm film thickness) (Figure 12C and 12D). Helium was used as carrier gas.



Figure 12. Extraction of total soil lipids in apolar phase (A), with subsequent isolation of phospholipids using silicic acid chromatography columns (B), with their concentration after solvent evaporation in N-EVAP (C) and final phase after saponification and methylation (D), prior to evaluation in mass spectrometer.

A total of 30 biomarkers were identified for all the samples. The PLFAs were affiliated with various microbial groups, using iso- and anteiso-branched fatty acids (i15:0; a15:0; i16:0; i17:0; a17:0) as indicators for gram-positive (gram+) bacteria, monounsaturated fatty acids (cy19:0; cy17:0; 2-OH 10:0; 2-OH 12:0; 3-OH 12:0; 2-OH 14:0; 3-OH 14:0; 2-OH 16:0; 16:1 ω 7) for gram-negative (gram-) bacteria, 10-methyl fatty acids (10-methyl 18:0; 10-methyl 19:0) for actinomycetes, 16:1 ω 5 for arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and 18:2 ω 9 and 12 for saprophytic fungi, after referred to as fungi. The PLFA abundance was reported as nmol per gram of dry soil (nmol PLFA g⁻¹ soil). The total bacteria was the sum of the gram+ bacteria, gram- bacteria, and actinomycetes. The total fungi was the sum of the fungi and AMF. The ratio between the gram+ and gram- bacteria and between the fungal and bacterial groups was calculated. The total MB was the sum of all the PLFA biomarkers.

2.3.2. Labile Carbon and nitrogen pools

POxC was measured following the procedure of Weil et al. (2003). Briefly, 2.5 g soil was mixed with 18 mL of deionized water and 2 mL of 0.2 M KMnO₄, then shaked for 2 min and allowed to settle for 10 min. Following settling, 0.5 mL of the supernatant was transferred into another tube and mixed with 49.5 mL of deionized water. Absorbance was measured in a spectrophotometer at 555 nm. The change in KMnO₄ concentration was used to estimate the amount of oxidized C, assuming that 1 mmol L⁻¹ KMnO₄ is consumed in the oxidation of 0.75 mmol L⁻¹ or 9 mg of C.

Total PLFAs were converted to soil MBC using a conversion factor of 5.8 mg C nmol⁻¹ PLFAs (Joergensen and Emmerling, 2006). The soil MBN content was determined according to the irradiation–extraction method (Ferreira et al., 1999). The irradiation time was calculated according to Islam and Weil (1998). The extraction of irradiated and non-irradiated samples was performed with potassium sulfate 0.5 mol L⁻¹. The MBN was calculated as the difference between the irradiated and non-irradiated samples, with a correction factor of 0.54 (Ferreira et al., 1999). The N content was measured according to Tedesco et al. (1995).

The soil AH-N content was determined using direct steam distillation (Roberts et al., 2009). Each sample (1 g) was placed in a Kjeldahl flask attached directly to the still, and 10 mL of 10 mol L⁻¹ NaOH was added to the flask. The amount of NH₄⁺–N captured in the distillate was quantified using acidimetric titration according to Tedesco et al. (1995).

2.3.3. Plant analysis

In the 2016/2017 and 2018/2019 cropping seasons, rice yield was evaluated by collecting rice from five random samples in each subplot. Harvesting was performed by hand, and each site consisted of two linear metres, totalling 4.5 m². The samples were threshed, cleaned, and weighed. The grain moisture was determined and adjusted to 130 g kg⁻¹.

The aboveground biomass production (AGP, Mg ha⁻¹) of the pasture was evaluated in 2013, 2014, 2015, 2016, 2017, and 2018. The AGP was

calculated by using the accumulated forage mass at the beginning of the grazing period, added to the forage accumulation rate (kg day^{-1}) and multiplied by the number of grazing days over an average period of 60 ± 19 days and 90 ± 24 days for ICLS-Rice and ICLS-Rice/soybean, respectively. The annual aboveground crop biomass from the 2013/2014 to the 2018/2019 cropping seasons was estimated from grain yield, considering a 1 / 1 harvest index.

2.4. Statistical analyses

Analyses were performed using the SAS statistical package® v.9.4 (Statistical Analysis System Institute, Cary, North Carolina), and the data were assessed using analysis of variance (ANOVA). The model considered the rice production systems as the main factors, with P and K mineral fertilization as the subdivided plots. Model residual assumptions were checked with the Shapiro-Wilk normality test and Levene's homogeneity of variance test. When a factor was deemed significant in the ANOVA, least squared means were calculated and compared using Tukey's adjustment. All the tests were performed at a significance level of alpha=0.05.

The MIXED procedure was used to evaluate the crop rotation and mineral fertilization effects. This procedure considers the main factors and their interactions as fixed factors, meanwhile blocks and experimental errors were considered as random factors. A split-plot model was used where crop rotation systems were the main plot and fertilization treatments were the subplot.

Mixed-effect linear regression models were used to explore the relationships of the gram+ bacteria, gram- bacteria, actinomycetes, fungi, and arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) with the labile N pools. Regression models were fit (SigmaPlot for Windows v. 13.0, Systat Software, Inc., San Jose, CA) using all the data, and models were assessed using both their statistical significance and coefficient of determination (R^2).

3. Results

3.1. Soil microbial abundance and community composition

P and K mineral fertilization increased the MB ($48 \text{ nmol PLFA g soil}^{-1}$) by 37% in both production systems (Table 4). Excluding AMF, all other microbial groups increased with P and K mineral fertilization. Total bacteria, total fungi, gram+ bacteria, gram- bacteria, actinomycetes, and fungi were 36%, 53%, 35%, 39%, 33%, and 49%, respectively higher when P and K were applied. The fungal / bacterial ratio and AMF abundance were not affected by production system or P and K mineral fertilization (Table 4).

Table 4. Soil microbial community composition with (P + K) or without (control) phosphate (P) and potassium (K) fertilization in rice cropping season depending on integrated crop-livestock systems (ICLS) in Brazilian subtropics

Production system	P and K Fertilization		Average
	P + K	Control	
----- Microbial biomass ($\text{nmol PLFA g soil}^{-1}$) -----			
ICLS-Rice	46.3	37.3	41.8 Ns
ICLS-Rice/soybean	49.9	33.0	41.5
Average	48.1 A	35.2 B	41.7
----- Total bacteria ($\text{nmol PLFA g soil}^{-1}$) -----			
ICLS-Rice	22.1	18.4	27.8 Ns
ICLS-Rice/soybean	24.0	15.5	27.3
Average	23.1 A	16.9 B	27.6
----- Total fungi ($\text{nmol PLFA g soil}^{-1}$) -----			
ICLS-Rice	2.5	1.6	5.3 Ns
ICLS-Rice/soybean	2.4	1.6	5.6
Average	2.4 A	1.6 B	3.7
----- gram+ ($\text{nmol PLFA g soil}^{-1}$) -----			
ICLS-Rice	14.8	11.9	13.4 Ns
ICLS-Rice/soybean	14.9	10.0	12.4
Average	14.8 A	11.0 B	12.9
----- gram- ($\text{nmol PLFA g soil}^{-1}$) -----			
ICLS-Rice	4.7	4.5	4.61 Ns
ICLS-Rice/soybean	6.2	3.3	4.75
Average	5.4 A	3.9 B	4.65
----- gram+ / gram- ratio -----			
ICLS-Rice	3.1 Aa	3.1 Aa	3.1
ICLS-Rice/soybean	2.6 Bb	3.0 Aa	2.8
Average	2.9	3.0	3.0
----- Actinomycetes ($\text{nmol PLFA g soil}^{-1}$) -----			
ICLS-Rice	2.6	2.0	2.3 Ns
ICLS-Rice/soybean	2.9	2.2	2.5
Average	2.8 A	2.1 B	2.4
----- AMF ($\text{nmol PLFA g soil}^{-1}$) -----			
ICLS-Rice	1.7	1.5	1.3 Ns
ICLS-Rice/soybean	1.8	1.4	1.3
Average	1.8 Ns	1.4	1.3
----- Fungi ($\text{nmol PLFA g soil}^{-1}$) -----			
ICLS-Rice	0.9	0.6	0.76 Ns
ICLS-Rice/soybean	0.8	0.5	0.67

Average	0.8 A	0.6 B	0.71
----- Fungal / bacterial ratio -----			
ICLS-Rice	0.11	0.09	0.10 Ns
ICLS-Rice/soybean	0.10	0.10	0.10
Average	0.11 Ns	0.10	0.10

ICLS-Rice: Rice monocropping in summer season and livestock production in winter season under no-till.
 ICLS-Rice/soybean: Flooded rice and soybean rotation in summer season and livestock production in winter season under no-till. Means of each production system and P and K fertilization for each fatty acid methyl ester (FAME) microbial group followed by the same lowercase letter are not significantly different. gram+ and gram- = gram positive and negative bacteria, respectively; AMF = Arbuscular mycorrhizal fungi. Tukey's test ($p<0.05$) = Different uppercase letters indicate differences between P and K mineral fertilization (with and without). Different lowercase letters indicate differences between the flooded rice production systems. Ns: no statistical difference.

The gram+ / gram- ratio was affected by the interaction between the flooded rice production system and P and K mineral fertilization (Table 4). P and K mineral fertilization did not affect the gram+ / gram- ratio in the ICLS-Rice system, although it decreased by 13% in the ICLS-Rice/soybean system (Table 4). Similarly, the flooded rice production systems presented the same gram+ / gram- ratio in the absence of P and K mineral fertilization. However, the ICLS-Rice/soybean system had a lower gram+ / gram- ratio than the ICLS-Rice system under P and K mineral fertilization. Rice/soybean rotation did not change the MB or soil microbial community composition compared to the rice monocropping system (Table 4).

3.2. Labile carbon and nitrogen pools

No differences in MBC and MBN were found between rice production systems (Figure 13). However P and K fertilization increased MBC 37% and MBN 36% on average of both systems (Figure 13). Despite the increase in MBC and MBN, the magnitude was different in both systems. P and K fertilization increased MBC and MBN in the ICLS-Rice system by 24% and 15%, respectively. In the ICLS-Rice/soybean system, MBC and MBN increased by 51% and 61%, respectively. The C / N ratio was not affected by the production system (Figure 13C).

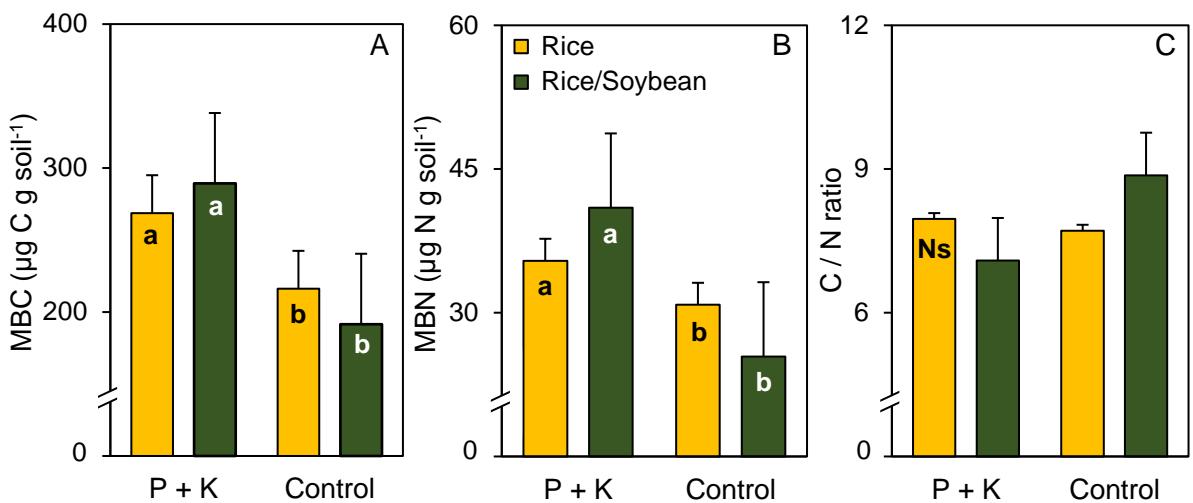


Figure 13. Microbial biomass carbon (MBC) (A), nitrogen (MBN) (B) and C / N ratio of microbial biomass (C) with (P + K) or without (control) phosphate (P) and potassium (K) fertilization, in the ICLS-Rice and ICLS-Rice/soybean systems in the 2018/2019 rice cropping season in Brazilian subtropics. ICLS-Rice: Rice monocropping in summer season and livestock production in winter season under no-till. ICLS-Rice/soybean: Flooded rice and soybean rotation in summer season and livestock production in winter season under no-till. Tukey's test ($p<0.05$) = Different uppercase letters indicate differences between P and K mineral fertilization (with and without). Ns: no statistical difference. Error bars represent standard error of the mean.

The production system did not affect the POxC content (Figure 14A). However, P and K mineral fertilization increased the POxC by 42%. The AH-N fraction was affected only by the production system (Figure 14B). The ICLS-Rice system had an AH-N of 54.3 kg ha^{-1} , while the ICLS-Rice/soybean system had an AH-N of 38 kg ha^{-1} .

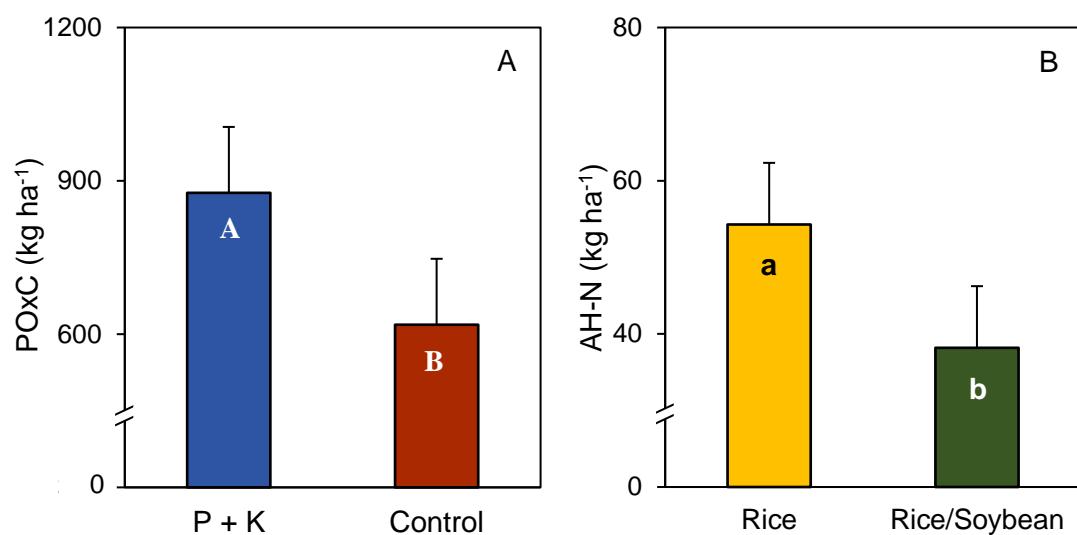


Figure 14. Potassium permanganate oxidizable carbon (POxC) (A) and soil alkaline hydrolyzable nitrogen (AH-N) (B) with (P + K) or without (control) phosphate (P) and potassium (K) fertilization in the ICLS-Rice and ICLS-Rice/soybean systems in the 2018/2019 rice cropping season in Brazilian subtropics. ICLS-Rice: Rice monocropping in summer season and livestock production in winter season under no-till. ICLS-Rice/soybean: Flooded rice

and soybean rotation in summer season and livestock production in winter season under no-till. Tukey's test ($p<0.05$) = Different uppercase letters indicate differences between P and K mineral fertilization (with and without). Different lowercase letters indicate differences between the flooded rice production systems. Error bars represent standard error of the mean.

3.3. Relationship between microbial groups and labile N pools

Positive relationships were observed between the MBN and gram+ bacteria, gram- bacteria, and fungi (Figure 15). The gram+ bacteria presented the greatest relationship ($R^2=0.61$), followed by the gram- bacteria ($R^2=0.54$) and fungi ($R^2=0.45$). However, each unit of gram+ and gram- bacteria increased by only 3.0 and 5.0 $\mu\text{g N g soil}^{-1}$ in the MB, respectively. On the other hand, each unit of fungi was capable of immobilizing 40.8 $\mu\text{g N g soil}^{-1}$ in the MB (Figures 15A, 15B, and 15D).

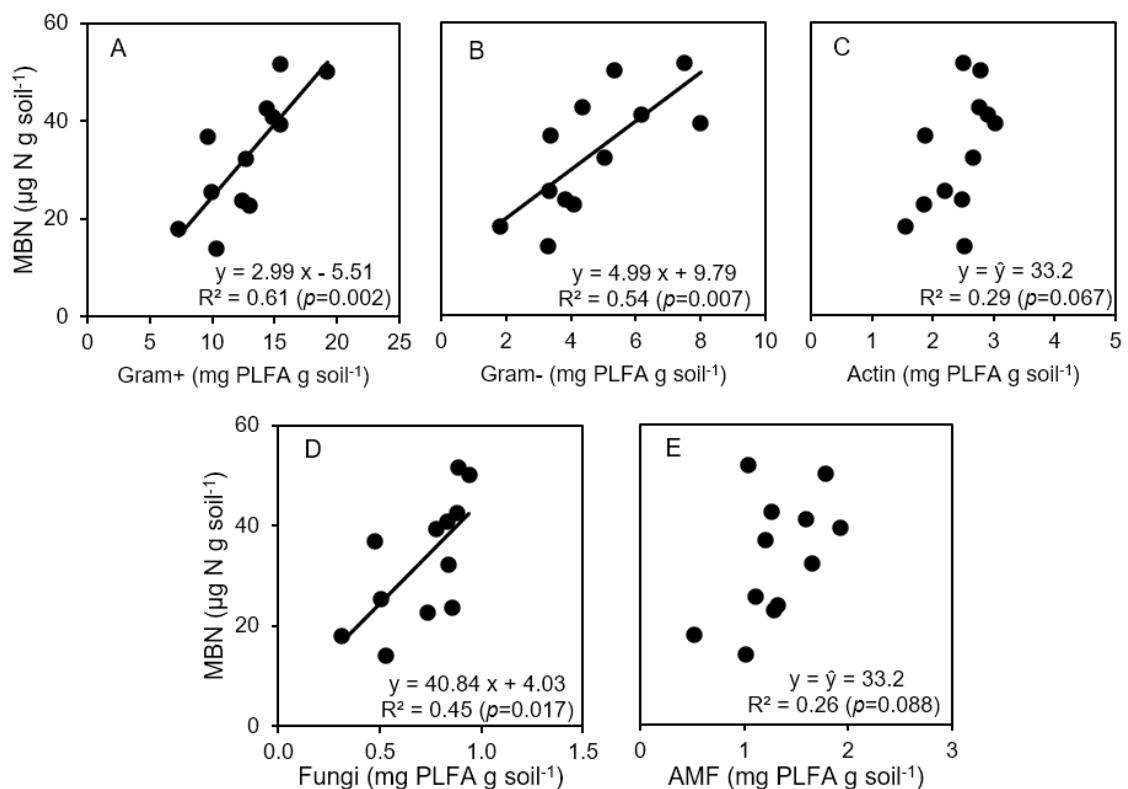


Figure 15. Relationship between microbial biomass nitrogen (MBN) and (A) Gram-positive bacteria (gram+), (B) Gram-negative bacteria (gram-), (C) Actinomycetes (Actin), (D) Fungi, and (E) Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF), in different integrated crop-livestock systems in Brazilian subtropics.

None of the microbial groups had a relationship with AH-N at the 5% significance level (Figure 16). However, AH-N was correlated with the gram+

bacteria in the ICLS-Rice system at $p=0.10$, with an R^2 of 0.52 (Figure 16A). In this case, each unit of gram+ bacteria increased 0.84 kg N ha^{-1} of alkaline hydrolyzable N.

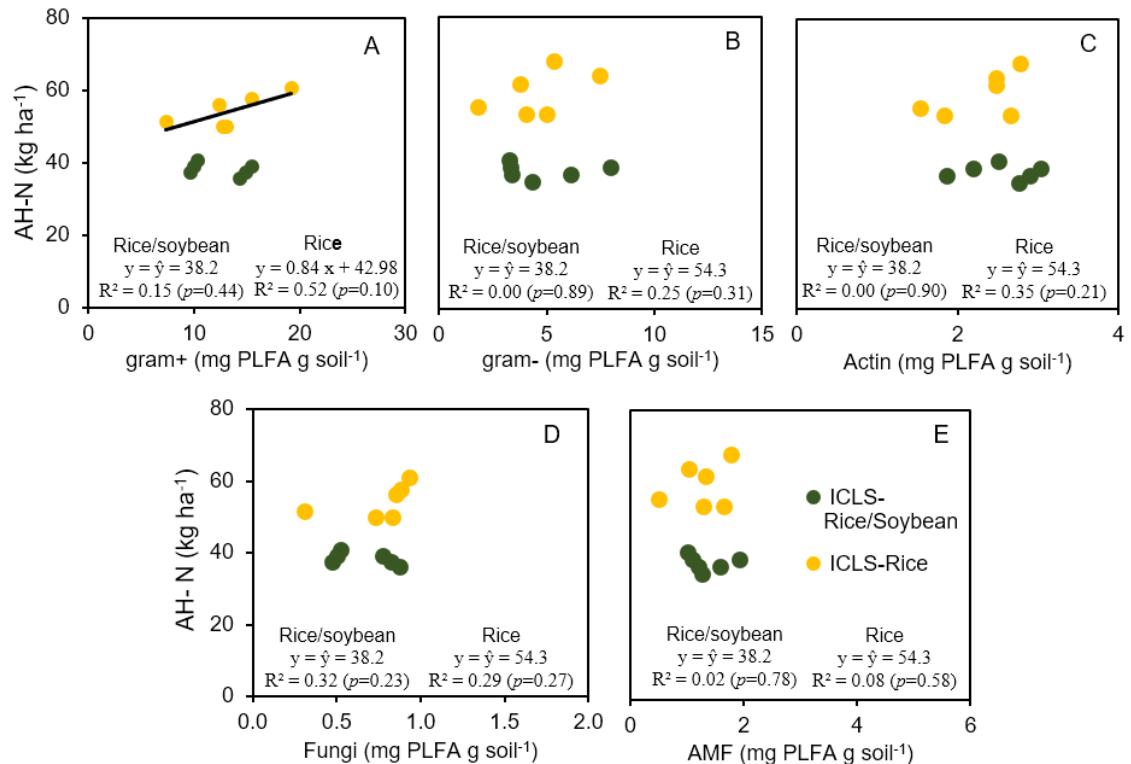


Figure 16. Relationship between soil alkaline hydrolyzable nitrogen (AH-N) and (A) Gram-positive bacteria (gram+), (B) Gram-negative bacteria (gram-), (C) Actinomycetes (Actin), (D) Fungi, and (E) Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF), in the ICLS-Rice and ICLS-Rice/soybean systems in the 2018/2019 rice cropping season in Brazilian subtropics. ICLS-Rice: Rice monocropping in summer season and livestock production in winter season. ICLS-Rice/soybean: Flooded rice and soybean rotation in summer season and livestock production in winter season.

3.4. Rice yield and shoot biomass inputs

Regardless of the production system, the flooded rice yield did not respond to P and K mineral fertilization under no-till ICLS (Figure 17A). However, the ICLS-Rice/Soybean system had 22.4% higher rice yield than the ICLS-Rice system (9.8 Mg ha^{-1}).

The ICLS-Rice system had an aboveground annual residue input (2013-2018) 15% greater than the ICLS-Rice/soybean system ($13.5 \text{ Mg ha}^{-1} \text{ year}^{-1}$) (Figure 17B). Because rice provides almost twice as much annual biomass input as soybean, the annual summer shoot biomass input of the ICLS-Rice system was 51% greater compared with the ICLS-Rice/soybean system. In

contrast, the annual input of aboveground biomass in the winter pasture was 17% greater in the ICLS-Rice/soybean system compared with the ICLS-Rice system (Figure 17B).

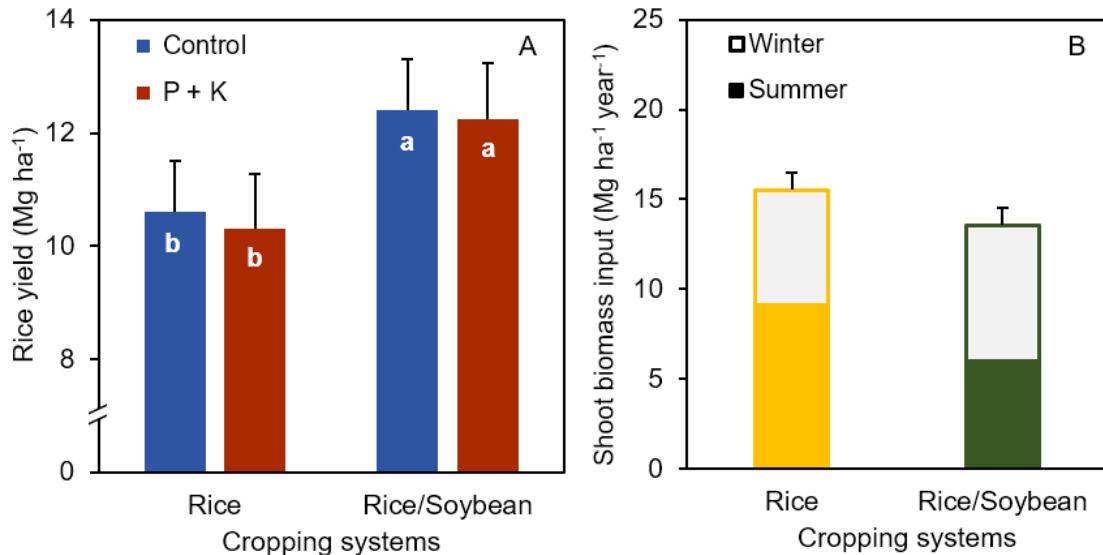


Figure 17. Flooded rice yield (A) with (P + K) or without (control) phosphate (P) and potassium (K) fertilization on average of the 2016/2017 and 2018/2019 rice cropping seasons and annually average shoot biomass input (B) in summer and winter (net primary production of forage) seasons in the ICLS-Rice and ICLS-Rice/soybean systems from the 2013/2014 to 2018/2019 cropping seasons in Brazilian subtropics. ICLS-Rice: Rice monocropping in summer season and livestock production in winter season under no-till. ICLS-Rice/soybean: Flooded rice and soybean rotation in summer season and livestock production in winter season under no-till. Tukey's test ($p<0.05$) = Different lowercase letters indicate differences between the flooded rice production systems. Error bars represent standard error of the mean.

4. Discussion

Results obtained in the same experiment reveal that the implementation of ICLS in subtropical paddy fields can increase the availability of N, P, and K by up to 70%, 177%, and 62%, respectively, during the flooded rice growing season related to continuous rice (Carlos et al., 2020). In previous studies, Denardin et al. (2020) found a lack of flooded rice grain yield response to P and K mineral fertilization in an ICLS-Rice due to the influence of ICLSSs on N, P, and K cycling. According to these authors, P and K fertilization may be avoided in the cropping season under no-till ICLSSs. Therefore, in these situations, the P and K removed in crop grains can be replaced during the pasture phase, enhancing forage and animal production (Farias et al., 2020). However, N remains a limiting nutrient for flooded rice (Denardin et al., 2020), mainly due to

the high residue input and N immobilization in this cropland under no-till conditions (Kögel-Knabner et al., 2010; Zhu et al., 2017; Denardin et al., 2019).

Previous studies have confirmed that the use of legumes can play an important role in improving soil fertility and sustaining crop production by increasing soil mineral N (Shafi et al., 2007; Mazzoncini et al., 2011). Assessing the use of legumes as cover crops in the winter season, Yu et al. (2014) documented a rice grain yield increase of over 5% and a reduction in the mineral N fertilizer requirement of 21.4%. Therefore, the higher rice yield (2 Mg ha^{-1}) found in ICLS-Rice/soybean (Figure 17A) may be related to the higher N availability in the soil.

The implementation of the ICLS with soybean-rice rotation decreased the annual aboveground biomass input in the summer season by 34% and increased the annual aboveground biomass input from winter pastures by 17% (Figure 17B). The greater residue quality (lower C / N ratio) of soybean and winter pasture, with greater N input compared than from rice residue (Abiven et al., 2005), can explain the lower AH-N in the ICLS-Rice/soybean system (Figure 14B). This may occur due to the lower N immobilization and faster N turnover at the beginning of the rice growing season. The AH-N fraction is determined by an alkaline distillation, a method that quantifies easily mineralizable organic N forms, such as amino acids (e.g., glutamine) and amino sugars (e.g., glucosamine) plus inorganic N as $\text{NH}_4\text{-N}$ (Roberts et al., 2009; Drescher et al., 2020). From this, we can infer that from the beginning of the rice cycle (sowing) until the first N fertilization (flooding), the ICLS-Rice system had less available N content in the soil than the ICLS-Rice/soybean, leading to a decrease of 2 Mg ha^{-1} in grain yield (Figure 17A). Therefore, in conditions of using a rice basal N fertilization (SOSBAI, 2018), different grain yields could be found.

According to Fanin et al. (2019), the gram+ / gram- ratio can be used as an indicator of the relative C availability and energy limitation of bacterial communities. Gram- bacteria generally increase in soil under high C availability (Fierer et al., 2007; Kramer and Gleixner, 2008; Nemergut et al., 2010; Pires et al., 2020). The metabolism of this bacterial group is less adapted to conditions of low C quality (Fierer et al., 2007), which means that the greater the available C is, the greater the relative abundance of gram- bacteria. Although gram- bacteria increased in both production systems under P and K fertilization, there was an

increase of 5.6% in the ICLS-Rice system and 85.3% in the ICLS-Rice/soybean system (**Table 4**). Although both production systems were affected by P and K fertilization, the ICLS-Rice/soybean may present a higher C availability than the ICLS-Rice system due to the higher straw quality (lower C / N ratio) input from soybean.

Mineral fertilization is not only an important agricultural practice for plant nutrition but is also capable of changing the dynamics of C and N in the soil (Nemergut et al., 2008), mediated by the action of soil microorganisms (Jangid et al., 2008). Because soil microbes are always limited by nutrients (Kuzyakov and Xu, 2013), mineral fertilizers have been reported to have effects on both soil microbial activity and community composition (Böhme et al., 2005; Pan et al., 2014), especially in paddy rice. Likewise, regarding the AMF microbial group, its increase was not expected because mineral fertilization is an important factor influencing AMF sporulation (Johnson and Pfleger, 1992). In that case, especially the supply of mineral P disfavours the increase in AMF (Guillemin et al., 1995; Olsson et al., 1997).

Possibly due to the increased abundance of the microbial community in the soil (Table 4) and greater MBC content (Figure 13A), P and K mineral fertilization increased POxC by 42% (from 618 to 876 mg C kg soil⁻¹) (Figure 14A). The POxC comprises fresh organic material, soil MB, particulate fraction of SOM and other easily metabolized organic compounds, such as carbohydrates (sugars) and proteins (amino acids) (Weil et al., 2003). Although it is a chemical indicator, several studies have shown that POxC is highly correlated with rapidly mineralizable C (Culman et al., 2013; Morrow et al., 2016). Therefore, it can be closely related to N availability via mineralization.

The increase in microbial population lead to N immobilization in the MB (Figure 13B). Regarding the main groups involved in N immobilization, positive relationships were observed between the MBN and the gram+ bacteria, gram- bacteria, and fungi (Figure 15A, 15B, and 15D). Previous studies have also revealed a greater contribution of gram+ and gram- bacteria and fungi to straw decomposition (Nottingham et al., 2009). Although the C / N ratio of fungi (8/1–29/1) being greater than in bacteria (4/1–8/1) (Paul, 2007), the fungal population demonstrated a greater N immobilization capacity (Figure 15D). However, since fungi tend to inhabit drier soils (Brockett et al., 2012; Guenet et al., 2012), the

total bacteria was almost 10 times higher than the total fungi on average of cropping systems (Table 4). For this reason, the gram+ and gram- bacteria had a greater participation in the residue decomposition process, immobilizing N in the MB during the flooding period of rice cultivation. Our results suggest that soil bacteria are more sensitive than fungi to changes in soil nutrient status during flooding period in paddy fields.

According to Cui et al. (2020), gram- bacteria are microorganisms capable of rapidly synthesizing PLFAs with labile C because they are r-strategists. Indeed, this microbial group seems to be quite responsive to labile C inputs (Nottingham et al., 2009; Gunina et al., 2014). On the other hand, gram+ bacteria and fungi are mainly composed of K-strategists that degrade the necromass generated from r-strategists, and therefore, their population increases later than that of gram- bacteria (Cui et al., 2020). AH-N was correlated only with the gram+ bacteria in the ICLS-Rice system ($p=0.10$), with an R^2 of 0.52 (Figure 16A). This indicates that gram+ bacteria are the main microbial group involved in the processes of N availability for flooded rice in the evaluated period. In addition to plant residues, probably these microorganisms are decomposing necromass residues from other microbial groups, which can represent important N sources for rice nutrition (Cui et al., 2020).

In summary, according to our results, P and K fertilization has a direct impact on the microbial community (Table 4) and consequently on the SOM turnover and N availability under recommended N rate (Figure 13B, 14A, and 16A). Therefore, although both studies of Denardin et al. (2020) and the current study were conducted providing the total N rate required (150 kg N ha^{-1}) for rice, the P and K fertilization could play a key role in the N availability and rice nutrition under reduced rates or in the absence of N fertilizer supply. In situations with available N restriction, P and K fertilization can alter the N turnover by increasing microbial activity and consequently impacting on rice yield. Therefore, the assessment of P and K mineral fertilization combined with decreasing N mineral rates is very important for the development of more efficient fertilizer management strategies.

5. Conclusions

This study demonstrates the impacts of crop rotation (soybean-rice rotation or rice monocropping) and P and K fertilization in the summer season in no-till ICLSs with beef cattle grazing during the winter season. Regardless of the production system (soybean-flooded rice rotation or rice monocropping), the flooded rice yield did not respond to P and K mineral fertilization in the ICLSs. However, the ICLS under soybean-rice rotation yielded 2 Mg of grain ha⁻¹ more than the rice monocropping system.

P and K mineral fertilization in flooded rice cropping has a fundamental importance in increasing specific microbial groups, such as gram+ and gram-bacteria, actinomycetes, and fungi, in both production systems. This leads to an increase in MBC, MBN, and labile forms of C in the soil (POxC). The gram+ / gram- bacteria ratio modification under P and K mineral fertilization reveals that the system under soybean-rice rotation presents a higher C availability than the rice monocropping system due to the higher straw quality input from soybean and winter pasture (lower C / N ratio).

Soil bacteria are more sensitive than fungi to changes in soil nutrient status during the flooded period in paddy fields. This group have a greater participation in residue decomposition and consequently in N immobilization in the MB in paddy fields.

CAPÍTULO VI – CAN WE IMPROVE NITROGEN USE EFFICIENCY IN PADDY RICE-BASED CROPPING SYSTEMS BY INTEGRATING LIVESTOCK AND SOYBEAN ROTATION?

1. Introduction

Rice is an important crop in the global scenario, being cultivated on more than 163 million hectares. Brazil is among the ten greatest rice producers in the world and, outside of Asia, the largest rice producer. Approximately 1.7 million hectares are used for rice production in Brazil, accounting for 12 million tons per year (CONAB, 2020), mostly produced in lowlands in the subtropics (southern region) (FAO, 2013). The lowlands of the Rio Grande do Sul state are responsible for approximately 60% of the Brazilian production. The conventional Brazilian rice cropping system includes yearly soil tillage and fallow periods with one growing season per calendar year (Timm et al., 2014).

The use of mineral fertilizers improves grain yield to meet the increasing food demand for rising global populations (Xue et al., 2014; Čuhel et al., 2019). Rice yield across the world is enhancing due to an increase in fertilizer inputs, especially N (Peng et al., 2010), that is usually the most yield-limiting nutrient for rice production (Bockman and Olfs, 1998; Singh et al., 2014), since N fertilizer plays an indispensable role in improving rice yield (Yang et al., 2012). However, the apparent recovery efficiency (ARE) of N is only 33%, mainly due to inappropriate management and excessive application rates (Garnett et al., 2009). Excessive use of N fertilizer has resulted in low N recovery efficiency and several environmental issues, such as surface water eutrophication, groundwater

pollution, and soil acidification (Zhu et al., 2002; Guo et al. 2010; Zhang et al., 2018). Therefore, efficient N management is a crucial approach for increasing the nitrogen use-efficiency (NUE) while minimizing environmental pollution in rice-based systems.

Improving the NUE of rice is an important goal in sustainable production systems. In subtropical paddy fields, ICLS appear as an alternative to improve NUE in flooded rice (Denardin et al., 2020). Using winter-grown pastures under no-till in rotation with flooded rice increases N availability (Carlos et al., 2020), reducing the mineral fertilizer requirements for rice in succession (Castoldi et al., 2019). These systems can alter the N content in plant tissues and soil solution (Carlos et al., 2020). In agreement, legume rotation may increase and sustain the long-term productivity of cereal-based cropping systems (Singh et al., 2002; Yu et al., 2014). The introduction of legumes in rotation can also increase N availability in N-limited soils, such as paddy fields, and maximize rice yields (Zhou et al., 2014; Hartmann et al., 2015; Denardin et al., 2019).

Moll et al. (1982) defined the basic concept of NUE as the plant's ability to uptake N from the soil and to partition absorbed N for grain production. The NUE can be sub-classified under physiological or agronomic aspects, such as in terms of agronomic efficiency (AE) and ARE (Xu et al., 2012). The grain yield increase per unit of N fertilizer applied is expressed by the AE and ARE is generally defined as the total N accumulation in the aboveground biomass per unit of applied N fertilizer. From a physiological aspect, N utilization efficiency (NutE) is an index of the N partitioning ability in the plant, defined as the ratio of grain yield to total N in the plant (Moll et al., 1982).

Huggins and Pan (2003) concluded that the decreased contribution of increased N use to NupE was unsynchronized crop N demand and N supply of N fertilizer and N mineralization. According to Denardin et al. (2020), besides the higher N availability in the soil, the greater NUE in ICLS is due to greater synchronism between N uptake by rice and N released from soil and microorganisms. According to these authors, ICLS presents a greater amount of plant and animal residues compared to the traditional rice cropping system, under winter fallow and soil disturbance. For this reason, N applied at rice tillering is more immobilized by microorganisms in the ICLS. However, the immobilized N becomes available for rice after death of microorganisms, releasing gradually the

N and favoring other yield components (Denardin et al., 2020). In this context, the use of ^{15}N -labelled fertilizer can identify the source of N used by rice and validate that hypothesis (Bronson et al., 2000).

We hypothesized that the ICLS adoption under no-till increase the NUE compared to flooded rice monocropping under soil disturbance. Such effect will be maximised by soybean rotation in summer season. Therefore, a field study and a greenhouse experiment using ^{15}N -labelled fertilizer were conducted to (*i*) evaluate the NUE under agronomic and physiological aspects, and (*ii*) quantify N fertilizer use by flooded rice, in different no-till ICLS in subtropical paddy fields.

2. Material and Methods

2.1. Site description and historical characterization of the experimental area

The field study was conducted in an on-farm experiment during 2018/2019 flooded rice cropping season at Corticeiras Farm, located in Cristal County, RS State, Brazil ($31^{\circ}37'13''\text{S}$, $52^{\circ}35'20''\text{W}$, 28 m a.s.l.). The regional climate is warm humid summer climate, classified as Cfa, according to Koeppen classification (Kottek et al., 2006). The local annual average temperature is 18.3°C , and the annual mean rainfall is 1522 mm. The soil is poorly drained classified as Albaqualf (Soil Survey Staff, 2000), with sandy clay loam texture (24, 23, and 53% of clay, silt, and sand, respectively).

The on farm experiment was installed in 2013 in a field area under a rice-fallow intensive tillage system from 1960 to 2009. Soil sampling for chemical characterization was done in 2013 at the beginning of the study. Soil acidity was corrected through lime incorporation (three heavy disks) at rate of 4.5 Mg ha^{-1} (total neutralization relative power of 70%), determined according to SBCS (2004), to increase the 0–20 cm soil layer to pH 6.0.

2.2. Treatment description and experimental design

Five production systems involving flooded rice were established in 18 hectares. The experiment was designed as a randomized complete blocks, with

three replications. However, for this study only three of the five systems were used, due to the highest frequency of flooded rice cultivation. The R-CT system is the traditional system in Brazilian paddy fields, based on intensive soil disturbance, rice monocropping, and winter fallow period. Both ICLS were managed under no-tillage, and had annual ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam.) grazed with beef cattle during the winter season. However, one system was based on flooded rice monocropping in summer season (R-ICLS) and another by soybean-flooded rice rotation during the summer season (R/S-ICLS).

In R-CT and R-ICLS rice was cultivated in all seasons from 2013-2014 to 2018-2019. However, in R/S-ICLS system, rice was cultivated in 2014/2015, 2016/2017, and 2018/2019 and soybean in 2013/2014, 2015/2016, and 2017/2018. Both ICLS had winter grazing in all years. The IRGA 424 RI rice cultivar was seeded in all seasons, seeded at 100 kg ha^{-1} in a 17 cm row spacing. The rice sowing and harvest occurred in October and April, respectively, in all systems. The Soybean TEC IRGA 6070 RR was sown in November of all years with a plant density of 31 plants m^{-2} , in a 45 cm row spacing and harvest in April.

Annual ryegrass was re-sowed at a density of 30 kg ha^{-1} using BRS Ponteio cultivar. Neutered yearling steers (Angus) weighing around 200 kg were used for grazing in all winter seasons. Average pasture height was 15 cm and average stocking were 831 ± 114 and $851 \pm 112 \text{ kg live weight ha}^{-1}$, for the R-ICLS and the R/S-ICLS, respectively. Cattle's feeding was forage-based with only mineral salt being provided. A continuous stocking was adopted (with a minimum of three test steers) and put-and-take animals were used to maintain targeted sward height.

The ryegrass fertilization was according to CQFS RS/SC (2004) recommendation averaging $126-119-112 \text{ kg ha}^{-1}$ of N-P₂O₅-K₂O annually from 2013 to 2018 winter seasons in both ICLS. In 2013/2014 and 2015/2016 summer season, the soybean fertilization was according SBCS (2004) representing 20-110-120 kg ha⁻¹ of N-P₂O₅-K₂O. The rice fertilization in the summer seasons was according to SOSBAI (2018) recommendation, representing 150-70-120 kg ha⁻¹ of N-P₂O₅-K₂O in all cropping seasons, excepting 2017/2018. In 2017/2018 cropping season, both soybean and flooded rice did not receive mineral fertilization.

2.3. Field experiment

In 2018/2019 cropping season, 5.5 years after the beginning of the experiment, two treatments were designed to evaluate the rice response to N fertilization. For this, subplots (4 × 5 meter) were reallocated in all experimental field plots (3 blocks × 3 production systems), with (150 kg ha⁻¹ of N) or without (0 kg ha⁻¹ of N) N fertilization. Fertilizer source used was urea (46% N), and the N fertilization was split into two applications: 67% applied at V₃ phenological stage, immediately before flooding, and 33% applied at V₈ phenological stage (Counce et al., 2000).

Rice tissue samples were collected at the R₄ stage (Counce et al., 2000) to evaluate rice's N accumulation and aboveground shoot dry matter (DM). Rice plants were sampled from 0.34 m² per subplot at the beginning of flowering. Samples were oven dried (forced air at 65 °C), weighed, ground, and sieved ($\varnothing = 0.5$ mm). N content in plant tissue was analyzed after chemical digestion (H₂O₂ + H₂SO₄) according to Tedesco et al. (1995). N accumulation was calculated using data obtained from the whole plant (Eq. 1).

$$NA = SNC \times SDMP \quad \text{Eq. 1}$$

where NA is N accumulation (kg ha⁻¹), SNC is shoot N content (kg Mg⁻¹), and SDMP is shoot DM production (Mg ha⁻¹).

A second plant sampling took place at R₇–R₈ rice stage (Counce et al., 2000) to determine grain yield. Rice yield was evaluated by collecting from three random samples in each subplot. Harvest was performed by hand, each point with one linear meter, totalling 0.51 m². Samples were threshed, cleaned, and weighed. Grain moisture was determined and adjusted to 130 g kg⁻¹. The N utilization efficiency (NutE) was obtained by determining the amount of grain produced per each kilogram of N accumulated in rice shoot DM (Eq. 2), according to Moll et al. (1982).

$$NutE = GY/NA \quad \text{Eq. 2}$$

where NutE is N utilization efficiency ($\text{kg grain kg N}^{-1}$), GY is grain yield (kg ha^{-1}), and NA is N accumulation (kg ha^{-1}). The AE was determined as a function of the increase in rice yield per unit of N applied via fertilizer, following Equation 3, described by Fageria and Baligar (2003):

$$AE = \frac{Yield_N - Yield_0}{AN_a} \quad \text{Eq. 3}$$

where AE is the agronomic efficiency (in kg kg^{-1}), Yield_N is the rice yield in the fertilized subplot (in kg ha^{-1}), Yield₀ is the rice yield in the non-fertilized subplot (in kg ha^{-1}), and AN_a is the amount of N applied via fertilizer (in kg N ha^{-1}). The ARE of the applied N was determined according to Equation 4, described by Fageria and Baligar (2003):

$$ARE (\%) = \frac{NA_f - NA_{nf}}{AN_a} \times 100, \quad \text{Eq. 4}$$

where ARE is the apparent recovery efficiency (%), NA_f is the N accumulation by the total biological yield (straw plus grain) in the fertilized subplot (in kg N ha^{-1}), NA_{nf} is the N accumulation by the total biological yield (straw plus grain) in the unfertilized subplot (in kg N ha^{-1}), AN_a is the quantity of N applied (in kg N ha^{-1}).

2.4. Greenhouse experiment

2.4.1. Soil sampling

In October 2018, previously to the rice sowing in 2018/2019 cropping season, undisturbed soil samples were collected in the field with polyvinyl polychloride rings with a volume of 1,177 cm^3 (15 cm height \times 10 cm diameter), positioned vertically and inserted on soil using a sledgehammer (Figure 18). Four cylinders were collected per experimental plot in the ICLS, and five cylinders in the R-CT system, totaling 39 cylinders [3 systems \times 3 blocks \times 4 cylinders (+3 additional cylinders from the R-CT system)]. The three additional cylinders collected in the R-CT system were used as controls, without ^{15}N fertilization. The

rings to be used as pots for flooded rice grown were taking off the soil with a shovel. Soil samples were maintained undisturbed to avoid changes in soil structure and SOM mineralization higher than in the field. The samples were transported to the soil fertility lab of Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul state, where the experiment was carried out in a greenhouse, from October 2018 to March 2019. The experiment was laid out in randomized complete block design with three replications, following the field design.



Figure 18. Collection of undisturbed samples with PVC tubes in the traditional rice system (A), and integrated crop-livestock system (B), prior to rice sowing (October 2018), to conduct the greenhouse experiment using ^{15}N -labelled fertilizer.

2.4.2. Experimental procedure and analysis

In the greenhouse, rice was sown in all pots, using four seeds (IRGA 424 RI® cultivar) per pot. Ten days after germination, thinning was done, keeping only two plants per pot. Prior to N fertilization, evaluations were made of the height and stage of development of the rice plants in all production systems. Two of the four cylinders plus the controls, were fertilized with ^{15}N -labelled urea for evaluation at the vegetative stage, and two were fertilized with common urea for evaluation after physiological maturity. Following the flooded rice recommendations (SOSBAI, 2018), in the V₃ stage of the rice, N fertilization was performed with urea (45% of N - natural concentration of 0.366% of ^{15}N atoms) and ^{15}N -labelled urea (10% atom excess) (Figure 19A).

The different systems received 118 mg of N in the form of ^{14}N and 2 mg of ^{15}N , adding a total N rate of 120 mg per pot, equivalent to a rate of 150 kg

N ha^{-1} . To meet these N requirements, 218.59 mg of common urea and 42.28 mg of ^{15}N -labelled urea were applied per pot. The pots for evaluation after physiological maturity were fertilized with 120 mg N pot^{-1} , at a dose of 267 mg of common urea per pot. Immediately after fertilization, the soil was saturated with distilled water, keeping a layer of 5 cm of water above the soil surface (Figure 19B). The soil was kept under flooded conditions throughout the experiment.



Figure 19. Nitrogen fertilization with ^{15}N -labelled fertilizer (A) and subsequent soil flooding simulating flooded rice cultivation (B), maintaining a water blade of 5 cm above the soil surface, in a greenhouse experiment.

After 21 days of N fertilization, the height, the stage of development and the number of tillers of rice plants were evaluated again. After that, the shoot biomass was collected, dried in a forced air oven (65°C) until they reach constant mass, and then weighed. The samples were macerated and sieved with 0.150 mm mesh. Plant tissue samples were analyzed for total N concentration in elemental analyzer and for ^{15}N content by automated combustion C / N analyzer coupled to an isotope ratio mass spectrometer.

The abundance of excess ^{15}N atoms was obtained by the difference between the isotopic abundance (% ^{15}N atoms) found in the samples and the natural abundance of ^{15}N in the control samples (no ^{15}N -labelled urea, ~ 0.366% of ^{15}N atoms). Based on these results, Eq. 5 and Eq. 6 were used to estimate the utilization % of N from fertilizer and the quantity of N derived from fertilizer (Ndff),

respectively. All equations were based on methodology described by Hood et al. (2000).

$$N \text{ recovery (\%)} = \left(\frac{\text{Amount of Ndff in the plant (mg)}}{\text{Amount of N applied as fertilizer (mg)}} \right) \times 100 \quad \text{Eq. 5}$$

$$Ndff \text{ (mg)} = \left(\frac{\% \text{ Ndff}}{100} \right) \times \text{Total N in rice (mg)} \quad \text{Eq. 6}$$

The %Nddf was calculated according to Eq. 7, where the % excess atoms of ^{15}N in the plant or in the fertilizer was calculated by subtracting the value found in the control, without application of ^{15}N -labelled urea from the abundance values of ^{15}N obtained from the analysis by mass spectrometry.

$$\%Ndff = \left(\frac{\% \text{ excess atoms of } ^{15}\text{N in the plant}}{\% \text{ excess atoms of } ^{15}\text{N in the fertilizer}} \right) \times 100 \quad \text{Eq. 7}$$

2.5. Statistical analyses

Analyses were performed using the SAS statistical package® v.9.4 (Statistical Analysis System Institute, Cary, North Carolina), and results were assessed using analysis of variance (ANOVA). Model residual assumptions were checked with the Shapiro-Wilk normality test and Levene's homogeneity of variance test. When a factor was deemed significant in the ANOVA, least squared means were calculated and compared using Tukey's adjustment. All tests were performed at a significance level of alpha=0.05.

The MIXED procedure was used to evaluate the cropping systems and N fertilization effects in the field experiment. This procedure considers the main factors and their interactions as fixed factors, and block and the experimental errors as random variables. A split plot model was used. The model used cropping systems systems as the main plot, and N fertilization treatments as the sub-plot.

3. Results

3.1. Field experiment

The N fertilization increased shoot DM in all systems (Table 5). However the increase due to N in R-ICLS and R/S-ICLS were 122% and 63% higher respectively than in R-CT (2.1 Mg ha^{-1}). This resulted in differences in shoot DM production among the systems with or without N fertilization. Without N fertilization the R-CT and the R/S-ICLS systems yielded 59% and 79% more shoot DM than the R-ICLS system, respectively. However, with N fertilization the R/S-ICLS system had the highest shoot DM production, yielding 64% and 38% more than the R-CT and the R-ICLS systems, respectively (Table 5).

Table 5. Flooded rice shoot dry matter, nitrogen accumulation in shoot dry matter, grain yield, and nitrogen utilization efficiency affected by nitrogen fertilization in different production systems in Brazilian subtropics

Nitrogen fertilization (kg ha^{-1})	Production systems			Average
	R-CT ⁽¹⁾	R-ICLS ⁽²⁾	R/S-ICLS ⁽³⁾	
Shoot dry matter (Mg ha^{-1})				
0	5.4 Ab	3.4 Bb	6.1 Ab	5.0
150	7.5 Ba	8.9 Ba	12.3 Aa	9.6
Average	6.5	6.1	9.2	
Nitrogen accumulation (kg ha^{-1})				
0	48.7 Ab	30.2 Ab	54.3 Ab	44.4
150	99.6 Ba	117.2 Ba	161.7 Aa	126.1
Average	74.2	73.7	108.0	
Grain yield (Mg ha^{-1})				
0	5.0	6.1	7.6	6.1 b
150	8.7	9.8	11.8	10.1 a
Average	6.8 B	7.9 AB	9.7 A	
Nitrogen utilization efficiency⁽⁴⁾ (kg grain kg N$^{-1}$)				
0	113.3 Ba	201.2 Aa	141.5 Ba	152.0
150	103.3 Aa	84.0 Ab	73.0 Ab	86.7
Average	108.3	142.6	107.2	

⁽¹⁾ R-CT = Tillage performed in autumn after every rice harvest, remaining under fallow period during the winter. ⁽²⁾ R-ICLS = Rice monocropping cultivated under no-tillage and with a winter grazing season in a pasture of annual ryegrass. ⁽³⁾ R/S-ICLS = Rice and soybean rotation in summer season cultivated under no-tillage and with a winter grazing season in a pasture of annual ryegrass. ⁽⁴⁾ Nitrogen utilization efficiency = Flooded rice grain yield per each kg of nitrogen accumulated in shoot dry matter. Tukey's test ($p<0.05$): Different lowercase letters indicate differences between the nitrogen fertilization levels within each flooded rice production system. Different uppercase letters indicate differences among flooded rice production systems within each nitrogen fertilization level.

Similar results were found for N accumulated in shoot DM. Whereas the N fertilization increased 51 kg ha⁻¹ of N in the R-CT system, under R-ICLS and R/S-ICLS systems the increases were 87 and 107 kg ha⁻¹ of N accumulated in shoot DM, respectively (Table 5). In the absence of N fertilization the systems had similar N accumulation, averaging 48 kg ha⁻¹ of N. However, when N was applied, the R/S-ICLS system had 62% and 38% more N accumulated than R-CT and R-ICLS systems, respectively (Table 5).

N addition increased grain yield in all systems by an average of 4 Mg ha⁻¹. However, the R/S-ICLS system yielded 43% more than R-CT system, with intermediate grain yield in the R-ICLS system (7.9 Mg ha⁻¹) (Table 5).

The NutE was affected by both N fertilization and production systems. The highest NutE was found in the absence of N fertilization in the R-ICLS system, with 201.2 kg of grain produced per kilogram of N accumulated (kg grain kg N⁻¹). This system was 77% and 42% more efficient than the R-CT and the R/S-ICLS systems, respectively, in the absence of N fertilization (Table 5). However, under N fertilization the systems showed no differences in the NutE. The N fertilization decreased the NutE in the R-ICLS and the R/S-ICLS systems by 58% and 52%, respectively. On the other hand, the NutE was not affected by N supply in the R-CT system (Table 5).

There were no effects of production systems in AE, averaging 26 kg of grain for each kg of N applied (Figure 20A). On the other hand, ARE was affected by the production systems. The R/S-ICLS system had an ARE 112% higher than the R-CT system, with intermediate ARE in the R-ICLS system (58%) (Figure 20B).

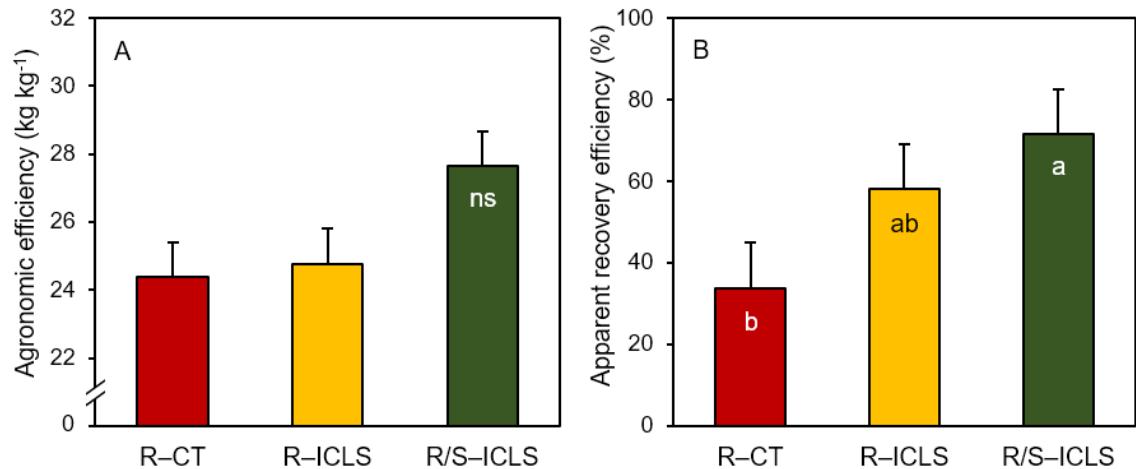


Figure 20. Agronomic efficiency (A) and apparent recovery efficiency (B) of nitrogen fertilizer by flooded rice affected by different production systems in Brazilian subtropics. Systems: R-CT = Tillage performed in autumn after every rice harvest, remaining under fallow period during the winter. R-ICLS = Rice monocropping cultivated under no-tillage and with a winter grazing season in a pasture of annual ryegrass. R/S-ICLS = Rice and soybean rotation in summer season cultivated under no-tillage and with a winter grazing season in a pasture of annual ryegrass. Tukey's test ($p<0.05$): Different lowercase letters indicate differences among flooded rice production system. ns, no statistical difference.

3.2. Greenhouse experiment

Prior to N fertilization rice presented three completely expanded leaves (V_3 stage) in all systems. Although significantly similar ($p=0.31$), the R-ICLS system had a lower height (19.9 cm) than the other systems (24.3 and 21.2 cm in the R-CT and the R/S-ICLS systems, respectively) at the moment of N fertilization (Figure 21). Twenty one days after N fertilization the systems increased 11 cm in height. However, the R-ICLS system was still 14% smaller than the R-CT system (35.0 cm) (Figure 21).

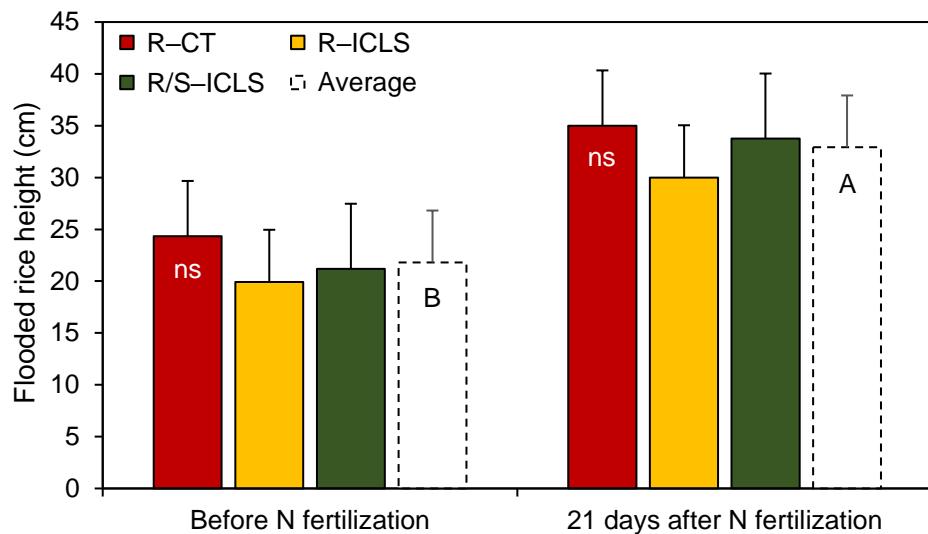


Figure 21. Height of flooded rice before and 21 days after nitrogen (N) fertilization, affected by different production systems in Brazilian subtropics. Systems: R-CT = Tillage performed in autumn after every rice harvest, remaining under fallow period during the winter. R-ICLS = Rice monocropping cultivated under no-tillage and with a winter grazing season in a pasture of annual ryegrass. R/S-ICLS = Rice and soybean rotation in summer season cultivated under no-tillage and with a winter grazing season in a pasture of annual ryegrass. Tukey's test ($p<0.05$): Different uppercase letters indicate differences between flooded rice production system.

Regarding the shoot DM production, the systems followed a pattern similar to the number of tillers. The R/S-ICLS and R-CT systems presented the highest shoot DM production (3.3 and 2.7 g pot⁻¹, respectively), and the R-ICLS system had the lowest shoot DM production, with 1.6 g pot⁻¹ (Table 6). Similarly for biomass production, the systems showed different N accumulation in shoot DM. The R-ICLS system had the lowest N accumulation in shoot DM, with 25.7 mg N pot⁻¹, followed by the R-CT and the R/S-ICLS systems, with N accumulations of 52.5 and 65.5 mg N pot⁻¹, respectively (Table 6).

Table 6. Nitrogen (N) content, shoot dry matter (DM), N accumulation in shoot DM, and number of tillers of flooded rice sampled on vegetative stage, and N content and shoot DM of flooded rice sampled on reproductive stage, under N fertilization with ¹⁵N-labelled fertilizer, in different production systems in an experiment carried out in greenhouse in Brazilian subtropics

Production systems ⁽¹⁾	N content	Shoot DM	N accumulation	Tillers ⁽⁴⁾	N content	Shoot DM
	Vegetative stage ⁽²⁾			Reproductive stage ⁽³⁾		
	-- % --	-- g pot ⁻¹ --	-- mg N pot ⁻¹ --		-- % --	-- g pot ⁻¹ --
R-CT	1.9	2.7 a	52.5 a	8.0	0.36	17.7 b
R-ICLS	1.6	1.6 b	25.7 b	6.1	0.47	19.2 b
R/S-ICLS	1.9	3.3 a	65.5 a	8.1	0.54	24.2 a
Average	1.8 ns	2.5	47.9	7.4 ns	0.46 ns	20.4

⁽¹⁾ R-CT = Tillage performed in autumn after every rice harvest, remaining under fallow period during the winter; R-ICLS = Rice monocropping cultivated under no-tillage and with a winter grazing season in a pasture of annual ryegrass; and R/S-ICLS = Rice and soybean rotation in summer season cultivated under no-tillage and with a winter grazing season in a pasture of annual ryegrass. ⁽²⁾Rice sampled 21 days after N fertilization. ⁽³⁾Rice sampled after physiological maturity. ⁽⁴⁾Number of tillers per plant. Tukey's test ($p<0.05$): Different lowercase letters indicate differences among the flooded rice production system.

The highest % of N derived from fertilizer at 21 days after N fertilization was found in the R-CT system, with 73.8% of Ndff (Figure 22A). The R/S-ICLS system showed the lowest %Ndff (24.2%), with similar value in the R-ICLS system (46.3%) (Figure 22A). Accordingly, multiplying the %Ndff by the N accumulated in the shoot rice DM, whereas the R-CT system was absorbed 36.8 mg N pot⁻¹ from the fertilizer, the R-ICLS and the R/S-ICLS systems absorbed 12.1 and 17.3 mg N pot⁻¹ from that source, respectively. This resulted in a N recovery from the fertilizer of 30.7%, 10.1%, and 14.4% in the R-CT, the R-ICLS and the R/S-ICLS systems, respectively (Figure 22B).

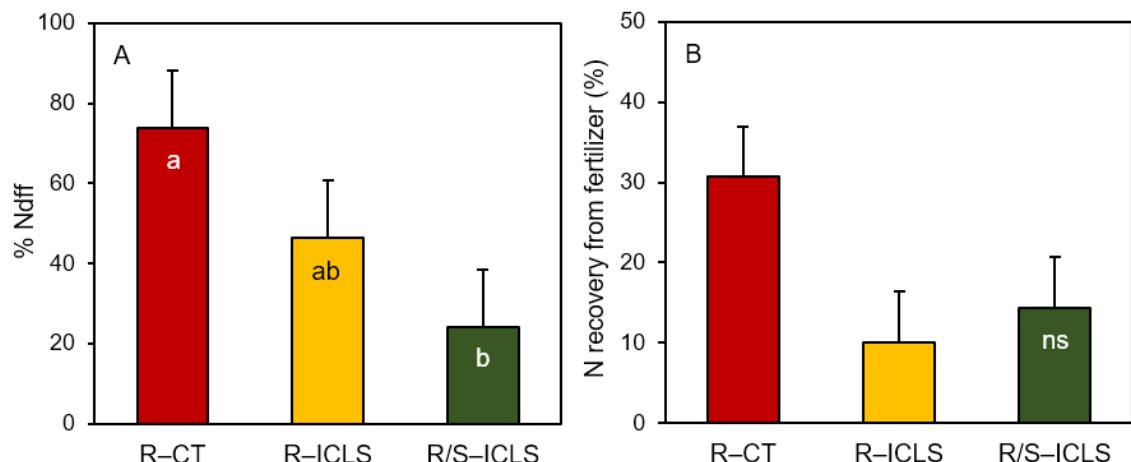


Figure 22. Nitrogen (N) derived (A) and recovery (B) from fertilizer on flooded rice affected by different production systems in Brazilian subtropics. Systems: R-CT = Tillage performed in autumn after every rice harvest, remaining under fallow period during the winter. R-ICLS = Rice monocropping cultivated under no-tillage and with a winter grazing season in a pasture of annual ryegrass. R/S-ICLS = Rice and soybean rotation in summer season cultivated under no-tillage and with a winter grazing season in a pasture of annual ryegrass. Tukey's test ($p<0.05$): Different lowercase letters indicate differences among flooded rice production system. ns, no statistical difference.

At the end of growing season, rice in the R/S-ICLS had higher shoot DM, N accumulation and number of panicles per plant than the other systems (Table 6, Figures 23A and 23B). On the other hand, the rice N content was not affected by the production systems, averaging 0.46% of N (Table 6). Rice in the R/S-ICLS system had a shoot DM production of 24.2 g pot⁻¹, and the R-CT and R-ICLS systems yielded 17.7 and 19.2 and g pot⁻¹, respectively (Table 6).

By the physiological maturity, the R-CT, R-ICLS, and R/S-ICLS systems increased N accumulation in 16%, 237%, and 99%, respectively compared to vegetative stage (Figure 23A). The R/S-ICLS system yielded 33.5 panicles per pot, 44% and 33% higher than the R-CT and the R-ICLS systems, respectively (Figure 23B).

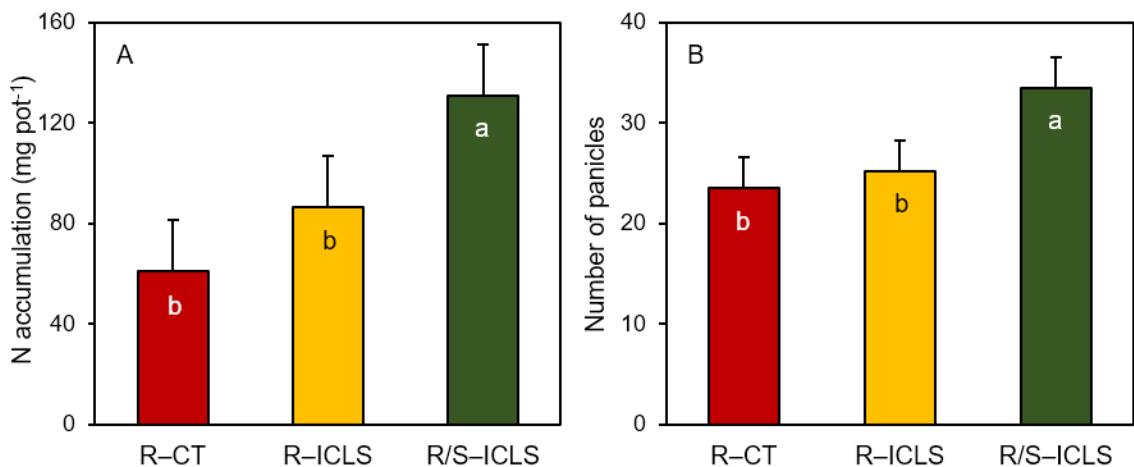


Figure 23. Nitrogen (N) accumulation in shoot DM (A) and number of panicles (B) of flooded rice sampled after physiological maturity, affected by different production systems in Brazilian subtropics. Systems: R-CT = Tillage performed in autumn after every rice harvest, remaining under fallow period during the winter. R-ICLS = Rice monocropping cultivated under no-tillage and with a winter grazing season in a pasture of annual ryegrass. R/S-ICLS = Rice and soybean rotation in summer season cultivated under no-tillage and with a winter grazing season in a pasture of annual ryegrass. Tukey's test ($p<0.05$): Different lowercase letters indicate differences among flooded rice production system.

4. Discussion

ICLS in subtropical lowlands have been proven to improve soil quality (Martins et al., 2017), soil nutrient availability (Carlos et al., 2020), and rice yield, reducing reliance on mineral fertilizer (Denardin et al., 2020). The R/S-ICLS system yielded 3 Mg ha^{-1} more than R-CT system, on the average of N rates (Table 5). This higher yield may be related to nutrient cycling (Assmann et al., 2017; Farias et al., 2020), favored by the large amount of animal and plant residues, and higher SOM labile fraction in R/S-ICLS, as observed by Martins et al. (2017) in the same experiment only 18 months after its establishment. On the other hand, N remains a limiting nutrient for rice yield, since N fertilization increased grain yield on all systems (Table 5).

Rice monocropping under no-till can lead to short-term rice yield gap due to reduced N availability (Denardin et al., 2019). The large amount of rice

straw, with a high C / N ratio added to the soil, may temporarily decrease N availability due to microbial N immobilization (Thuy et al., 2008; Singh et al., 2009; Kuzyakov and Xu, 2013). On the other hand, crop rotation with legumes can play an important role in improving soil fertility and sustaining rice yield by increasing N availability (Singh et al. 2002; Mazzoncini et al., 2011; Yu et al., 2014) and soil biological activity on ICLS (Martins et al., 2017; Carlos et al., 2020). Therefore, the higher rice yield (1.8 Mg ha^{-1}) found in the R/S–ICLS system compared to the R–ICLS system (Table 5) may be related to the potential greater residue quality (lower C / N ratio) deposited in the soil in smaller quantities from soybean, with greater N input (Abiven et al., 2005; Mazzoncini et al., 2011), resulting in less temporary N immobilization and higher N availability for rice.

The recovery efficiency of N fertilizer by rice generally ranges from 20 to 80% with an average of about 30–40% (Cassman et al., 1993). Dobermann (2007) proposed that the recommended AE and ARE for good management are $25\text{--}30 \text{ kg kg}^{-1}$ and 50–80%, respectively. According to these limits, all systems were classified as good management considering the AE, averaging 26 kg kg^{-1} (Figure 20A). Denardin et al. (2020) documented high rice yields even with reduced N rates in ICLS. Therefore, studies reducing N fertilization and evaluating the AE of rice in different ICLS are needed. Regarding the ARE, only the ICLS were classified as good management, with ARE of 72% and 58% for the R/S–ICLS and the R–ICLS systems, respectively (Figure 20B).

The higher ARE in the R/S–ICLS system may be related to higher increments of N accumulation under N fertilization. The greater N accumulation in the R/S–ICLS system (Table 5) may be due to the ‘priming effect’, increasing microbial activity and hence the release of previously temporarily immobilized N (Geisseler et al., 2017). This effect suggests that N fertilization can stimulate soil N mineralization (Westerman and Kurtz, 1973). Mineral fertilizers have long been reported to have effects on microbial activity and microbial community composition in the soil (Ding et al., 2016; Geisseler et al., 2017). It is important to point out that there is a greater N input via fertilizer to winter pastures in the ICLS, which may be cycled and made available to rice in succession.

Assessment of the % Ndff proved the hypothesis that rice absorbed less N from fertilizer in the ICLS up to 21 days after fertilization. Whereas the R–CT system had 74% of Ndff, the R–ICLS and the R/S–ICLS systems had 46%

and 24% of Ndff, respectively (Figure 22A). Unlike the R-CT system, the ICLS receive a large amount of animal and plant residues input in the winter season, which may be contributing to higher N availability for rice. It is known that more than 50% of the N assimilated by the crops originates from the release of organic compounds (Mikkelsen, 1987; Cassman and Pingali, 1995), coming from the SOM and crop residues.

Although both ICLS took up less N from fertilizer (Figure 22A and 22B), the cause for this seems to be different. The higher temporary immobilization of N applied at tillering seems to be limiting the N uptake (Geisseler et al., 2010; Kuzyakov and Xu, 2013; Liu et al., 2016) via fertilizer in the R-ICLS system, due to the lower shoot DM production and N accumulation in the field (Table 5) and greenhouse data (Table 6). On the other hand, rice in the R/S-ICLS system always had N accumulation equal or superior to other systems (Figure 23A, Table 5 and 6), even absorbing less via fertilizer (Figure 22A and 22B). The greater residue quality (lower C / N ratio) and extra N input via biological N fixation from soybeans in the R/S-ICLS possibly contribute to the existence of more sources of available N, being less dependent on N via fertilizer.

According to Dobermann and Fairhurst (2000), the relationship between grain yield and N uptake that reveals an optimal internal NutE is 68 kg grain yielded per kg of N accumulated in the rice shoot DM. Considering these limits, all systems had an optimal internal NutE, regardless of N fertilization (Table 5). However, the R-ICLS system was more efficient than the R-CT and the R/S-ICLS systems in the absence of N fertilization, possibly due to greater N immobilization by soil microorganisms leading to lower shoot dry matter production (Table 5). Denardin et al. (2020) also documented greater NutE in the R-ICLS system compared with R-CT when no N fertilizer was applied, possibly related to greater synchronism between N uptake by rice and N released from soil and microorganisms (Kuzyakov and Xu, 2013; Liu et al., 2016). Although we did not use ¹⁵N-labelled fertilizer in the samples collected at the end of the rice growing season, the higher N accumulations are indicative of greater N supply throughout the rice cycle in both ICLS (Table 6; Figure 23A).

Nitrogen uptake at rice tillering (V_3 stage) (Counce et al., 2000) plays an imperative role in attaining sufficient DM accumulation to translate into grain yield. However, adequate N availability throughout the rice growing season is

necessary for the growth of developing panicle, number of branches per panicle, and 1000-grain weight (Feng et al., 2020). Therefore, possibly the higher N availability throughout the rice growing season in both ICLS, resulting in greater synchronization of an adequate supply of N to crop demand (Rehman et al., 2013), is explaining the higher rice yields (Table 5 and 6).

Nitrogen fertilization is an important agricultural practice for improving plant nutrition, reaching high rice yields, and also for changes of soil environment, which can affect the activity and diversity of soil microorganisms (Jangid et al., 2008; Ding et al., 2016; Geisseler et al., 2017). A possible ‘priming effect’ found in both ICLS emphasizes the importance of N fertilization not only acting directly in rice nutrition, but also indirectly acting as a catalyst by increasing microbial activity (Geisseler et al., 2017), and the N availability that was temporarily immobilized. In this sense, it is fundamental to conduct studies evaluating the effect of N fertilization on microbial activity and community, as well as the assessment of the effect of providing different N rates on AE and rice yield in different ICLS.

5. Conclusions

Integrated crop-livestock systems (ICLS) appear as a good alternative to increase N use-efficiency (NUE) in flooded rice through the improvement in N availability and rice yields in paddy fields. In this way, the rice-soybean rotation in ICLS (R/S–ICLS) yields 43% more grains than the conventional system (R–CT), under winter fallow and soil disturbance and ensures the greatest ARE of N fertilizer by flooded rice.

Rice in ICLS absorbs less N from fertilizer up to 21 days after fertilization. This result, combined with higher N accumulations in rice from vegetative to reproductive stage suggest greater N supply throughout the rice growing season in both ICLS.

Although both evaluated ICLS absorbed less N from fertilizer, the cause for this seems to be different: whereas in the rice monocropping system (R–ICLS) there is a possible N immobilization, reducing biomass production and consequently N accumulation, in the R/S–ICLS system there are several sources

of N available, being less dependent on N via fertilizer without compromising N accumulation and rice yield.

CAPÍTULO VII – CONCLUSÕES GERAIS

O plantio direto e o pastejo no período hibernal, constituindo um sistema integrado de produção agropecuária em terras baixas no subtrópico brasileiro, modifica a resposta do solo e dos cultivos do arroz e da soja à adubação mineral, em relação a áreas manejadas com preparo convencional (revolvimento do solo), monocultivo do arroz e pousio hibernal. Em tais sistemas consolidados há menor probabilidade de resposta em produtividade, da soja e do arroz irrigado, à adubação mineral com P e K. Nesse sentido, o P e K removido nos grãos de soja e arroz podem ser repostos durante a fase de pastagem, caracterizando uma *adubação de sistema*, potencializando a produção de forragem e animal.

Por outro lado, a adubação mineral com P e K tem uma importância fundamental no cultivo de arroz irrigado sob SIPA, aumentando grupos microbianos específicos, tais como bactérias gram+ e gram-, actinomicetos e fungos saprofíticos durante o período de alagamento do cultivo do arroz, independentemente do sistema de produção. Isto leva a um aumento no conteúdo de C e N na biomassa microbiana e formas lábeis de C no solo (POxC).

As bactérias do solo são mais sensíveis do que os fungos às mudanças no estado nutricional do solo durante o período de alagamento sob cultivo do arroz em SIPA. Este grupo tem uma maior participação na decomposição dos resíduos durante o período de alagamento e, consequentemente, na imobilização de N na biomassa microbiana sob cultivo do arroz irrigado.

A alteração na razão de bactérias gram+ / gram- sob adubação mineral com P e K revela que o SIPA com rotação soja-arroz no verão apresenta maior disponibilidade de C do que o SIPA com monocultivo de arroz, devido à maior qualidade do resíduo da soja e do pasto de inverno (menor relação C / N). Essa pode ser uma das razões para esse arranjo produtivo produzir em média 2 Mg ha⁻¹ de grãos de arroz a mais do que o SIPA com monocultivo de arroz.

Em relação à adubação nitrogenada, o nitrogênio continua sendo um nutriente limitante para obtenção de altas produtividades de arroz, independentemente do sistema de produção, aumentando 65% da sua produtividade. No entanto, um possível ‘efeito priming’ encontrado em ambos arranjos de SIPA enfatiza a importância da adubação nitrogenada, não apenas atuando diretamente na nutrição do arroz, mas também indiretamente como um catalisador que aumenta a atividade microbiana, e a disponibilidade de N imobilizado na biomassa microbiana.

O arroz absorve menos N oriundo do fertilizante sob SIPA. Este resultado, combinado com maiores acúmulos de N no arroz do estágio vegetativo até o reprodutivo, indica um maior suprimento de N ao longo de todo o ciclo de cultivo do arroz sob SIPA, suportando a hipótese de que existe um maior sincronismo entre a absorção de N pelo arroz e a liberação de N pelo solo e pelos microorganismos em SIPA.

CAPÍTULO VIII – PERSPECTIVAS FUTURAS DE PESQUISA

No sentido de avançar no manejo da adubação mineral em áreas que contam com a adoção do plantio direto e da inserção do componente animal (sistema integrado de produção agropecuária) em terras baixas, e que levem a uma maior compreensão das respostas observadas na produtividade das culturas, servindo de subsídio para futuras recomendações específicas de adubação nitrogenada, fosfatada e potássica para tais sistemas, sugere-se os seguintes aprofundamentos e/ou estudos:

- a) Acompanhamento do efeito da aplicação de P e K isolados, na disponibilidade de N (*turnover* da MO do solo) e no rendimento do arroz irrigado;
- b) Avaliação do efeito da adubação com P e K combinado com doses decrescentes de N no solo (na abundância e composição microbiana e na disponibilidade de N) e na produtividade do arroz irrigado;
- c) Avaliação da eficiência agronômica e da dose de máxima eficiência técnica e econômica da adubação nitrogenada em diferentes arranjos de SIPA;
- d) Avaliação do efeito de diferentes doses de N na atividade, abundância e composição da comunidade microbiana no campo;
- e) Quantificação da absorção de N pelo arroz em diversos períodos da estação de crescimento (e.g. curva de absorção de N); e
- f) Utilização de fertilizantes marcados com isótopo de ^{15}N para quantificação da contribuição de diferentes fontes (e.g. solo, fertilizante, resíduos) para nutrição do arroz em diferentes fases do crescimento.

REFERÊNCIAS

- ABIVEN, S. *et al.* Mineralisation of C and N from root, stem and leaf residues in soil and role of their biochemical quality. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 42, p. 119–128, 2005.
- ACHARYA, C. N. Studies on the anaerobic decomposition of plant materials. III. Comparison of the course of decomposition under anaerobic, aerobic, and partially aerobic conditions. **Biochemical Journal**, London, v. 29, p. 1116–1120, 1935.
- AI, C. *et al.* Distinct responses of soil bacterial and fungal communities to changes in fertilization regime and crop rotation. **Geoderma**, Amsterdam, v. 319, p. 156–166, 2018.
- ALLISON, S. D.; MARTINY, J. B. H. Resistance, resilience, and redundancy in microbial communities. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, DC, v. 105, p. 11512–11519, 2008.
- ALMEIDA, D.; ANGHINONI, I. **Soja 6000: manejo para alta produtividade em terras baixas**. 2. ed. Porto Alegre: Gráfica e Editora RJR, 2018.
- ALVES, B. J. R. *et al.* Emprego de isótopos estáveis para o estudo do carbono e do nitrogênio no sistema solo-planta. In: AQUINO, A. M.; ASSIS, R. L. (ed.). **Processos biológicos no sistema solo-planta: ferramentas para uma agricultura sustentável**. Brasília, DF: Embrapa-SCT, 2005. p. 343–350.
- ALVES, B. J. R. *et al.* Métodos isotópicos. In: SANTOS, G. A.; CAMARGO, F. A. O. (org.). **Fundamentos da matéria orgânica do solo: ecossistemas tropicais e subtropicais**. Porto Alegre: Genesis, 1999. p. 337–357.
- ALVES, L. A. *et al.* Soil acidification and P, K, Ca and Mg budget as affected by sheep grazing and crop rotation in a long-term integrated crop-livestock system in southern Brazil. **Geoderma**, Amsterdam, v. 351, p. 197–208, 2019.
- AMBASSA-KIKI, R.; ABOUBAKAR, Y.; BOULAMA, T. Zero-tillage for rice production on Cameroonian Vertisols. **Soil & Tillage Research**, Amsterdam, v. 39, p. 75–84, 1996.
- ANDO, H.; ARAGONES, R. C.; WADA, G. Mineralization pattern of soil organic N of several soils in the tropics. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, Chillán, v. 38, p. 227–234, 1992.
- ANGHINONI, I. **Fertilidade dos solos cultivados com arroz irrigado no Rio Grande do Sul**. Porto Alegre: IRGA, 2004.
- ANGHINONI, I.; CARVALHO, P. C. F.; COSTA, S. E. V. G. A. C. Abordagem sistêmica do solo em sistemas integrados de produção agrícola e pecuária no subtrópico brasileiro. In: ARAUJO, A. P.; ALVES, B. J. R. (ed.). **Tópicos em**

ciência do solo. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2013. p. 325-380.

ANTONANGEL, O. J. A. et al. Soybean yield response to phosphorus fertilization in an oxisol under long-term no-till management. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 83, p. 173–180, 2019.

ASCHI, A. et al. Introduction of Faba bean in crop rotation: impacts on soil chemical and biological characteristics. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 120, p. 219–228, 2017.

ASHRAF, M. et al. Comparative effects of applying leguminous and non-leguminous green manures and inorganic N on biomass yield and nitrogen uptake in flooded rice (*Oryza sativa* L.). **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 40, p. 147–152, 2004.

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, v. 108, p. 21–33, 2017.

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 & Environment**, Amsterdam, v. 190, p. 52–59, 2014.

AUGUSTINE, D. J.; FRANK, D. A. Effects of migratory grazers on spatial heterogeneity of soil nitrogen properties in a grassland ecosystem. **Ecology**, Washington, DC, v. 82, p. 3149–3162, 2001.

AULAKH, M. S. et al. Impact of root exudates of different cultivars and plant development stages of rice (*Oryza sativa* L.) on methane production in a paddy soil. **Plant and Soil**, The Hague, v. 230, p. 77–86, 2001.

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 & Biochemistry**, Amsterdam, v. 42, p. 2174–2181, 2010.

BAI, Q.; GATTINGER, A.; ZELLES, L. Characterisation of microbial consortia in paddy rice soil by phospholipid analysis. **FEMS Microbiology Ecology**, Amsterdam, v. 39, p. 273–281, 2000.

BARDGETT, R. D.; WARDLE, D. A.; YEATES, G. W. Linking aboveground and below-ground interactions: how plant response to foliar herbivory influence soil organisms. **Soil Biology & Biochemistry**, Amsterdam, v. 30, n. 14, p. 1867–1878, 1998.

BARTHRAM, G. T. Experimental techniques: the HFRO sward stick. In: **HFRO: the hill farming research organization biennial report 1984/1985**. Penicuik: HFRO, 1986. p. 29-30.

BAYER, C. et al. A method for estimating coefficients of soil organic matter dynamics based on long-term experiments. **Soil & Tillage Research**, Amsterdam, v. 91, p. 217–226, 2006.

BAYER, C. et al. Yield-scaled greenhouse gas emissions from flood irrigated rice under long-term conventional tillage and no-till systems in a humid subtropical climate. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 162, p. 60–69, 2014.

BAYER, C.; MIELNICZUK, J.; MARTIN-NETO, L. Efeito de sistemas de preparo e de cultura na dinâmica da matéria orgânica e na mitigação das emissões de CO₂. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 24, p. 599–607, 2000.

BECKER, M.; ANGULO, C. The evolution of lowland rice-based production systems in Asia: historic trends, determinants of change, future perspective. **Advances in Agronomy**, San Diego, v. 157, p. 293–327, 2019.

BENDING, G. D. et al. Microbial and biochemical soil quality indicators and their potential for differentiating areas under contrasting agricultural management. **Soil Biology & Biochemistry**, Amsterdam, v. 36, p. 1785–1792, 2004.

BEUTLER, A. N. et al. Manejo do solo, palha residual e produtividade de arroz irrigado por inundação. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 35, n. 3, p. 1153–1162, 2014.

BEUTLER, A. N. et al. Propriedades físicas do solo e produtividade de arroz irrigado em diferentes sistemas de manejo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 36, n. 5, p. 1083–1091, 2012.

BHARATI, M. P.; WHIGHAM, D. K.; VOSS, R. D. Soybean response to tillage and nitrogen, phosphorus, and potassium fertilization. **Agronomy Journal**, Madison, v. 78, p. 947–950, 1986.

BINGHAM, A. H.; COTRUFO, M. F. Organic nitrogen storage in mineral soil: implications for policy and management. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 551, p. 116–126, 2016.

BIRCHAM, J. S. **Herbage growth and utilization under continuous stocking management**. 1981. 381 f. Thesis (Doctorate) - University of Edinburgh, Edinburgh, 1981.

BIRD, J. A. et al. Immobilization of fertilizer nitrogen in rice: effects of straw management practices. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 65, p. 1143–1152, 2001.

BIRD, J. A.; VAN KESSEL C.; HORWATH, W. R. Nitrogen dynamics in humic fractions under alternative straw management in temperate rice. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 66, p. 478–488, 2002.

- BIRD, J. A.; VAN KESSEL, C.; HORWATH, W. R. Stabilization of ^{13}C -carbon and immobilization of ^{15}N -nitrogen from rice straw in humic fractions. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 67, p. 806–816, 2003.
- BOCKMAN, O. C.; OLFS, H. W. Fertilizers, agronomy and N_2O . **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, Dordrecht, v. 52, p. 165–170, 1998.
- BOENI, M. et al. **Evolução da fertilidade dos solos cultivados com arroz irrigado no Rio Grande do Sul**. Cachoeirinha: IRGA, 2010. (Boletim Técnico, 8).
- BÖHME, L.; LANGER, U.; BÖHME, F. Microbial biomass, enzyme activities and microbial community structure in two European long-term field experiments. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, Amsterdam, v. 109, p. 141–152, 2005.
- BOOTH, M. S.; STARK, J. M.; RASTETTER, E. Controls on nitrogen cycling in terrestrial ecosystems: a synthetic analysis of literature data. **Ecological Monographs**, Washington, DC, v. 75, p. 139–157, 2005.
- BOSSIO, D. A.; SCOW, K. M. Impact of carbon and flooding on the metabolic diversity of microbial communities in soils. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, DC, v. 61, p. 4043–4050, 1995.
- BOSSIO, D. A.; SCOW, K. M. Impacts of carbon and flooding on soil microbial communities: phospholipid fatty acid profiles and substrate utilization patterns. **Microbial Ecology**, Washington, DC, v. 35, p. 265–278, 1998.
- BOSSUYT, H. et al. Influence of microbial populations and residue quality on aggregate stability. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 16, p. 195–208, 2001.
- BRINKMAN, R.; BLOKHUIS, W. A. Classification of the soils. In: JUO, A. S. R.; LOWE J. A. (ed.). **Wetlands and rice production in subsaharan Africa**. Ibadan: International Institute of Tropical Agriculture, 1986. p. 31–42.
- BROCKETT, B. F. T.; PRESCOTT, C. E.; GRAYSTONAND, S. J. Soil moisture is the major factor influencing microbial community structure and enzyme activities across seven biogeoclimatic zones in western Canada. **Soil Biology & Biochemistry**, Amsterdam, v. 44, p. 9–20, 2012.
- BRONSON, K. F. et al. Use of ^{15}N -labeled soil in measuring nitrogen fertilizer recovery efficiency in transplanted rice. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 64, p. 235–239, 2000.
- BURESH, R. J. et al. Fallow and sesbanis effects on response of transplanted lowland rice to urea. **Agronomy Journal**, Madison, v. 85, p. 801–808, 1993.
- BURESH, R. J. Fertile progress. **Rice Today**, Manila, v. 6, p. 32–33, 2007.

- BURGOS, N. R. *et al.* Competitive N uptake between rice and weedy rice. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 99, n. 2/3, p. 96–105, 2006.
- CAMARGO, F. A. D. O.; SANTOS, G. D. A.; ZONTA, E. Alterações eletroquímicas em solos inundados. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 29, p. 171–180, 1999.
- CANTARELLA, H. Nitrogênio. In: NOVAIS, R. F. *et al.* (ed.). **Fertilidade do solo**. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2007. p. 375–470.
- CARLOS, F. S. *et al.* Integrated crop–livestock systems in lowlands increase the availability of nutrients to irrigated rice. **Land Degradation & Development**, Chichester, v. 31, p. 2962–2972, 2020.
- 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, MG, v. 40, [art.] e0140798, 2016.
- CARMONA, F. C. *et al.* **Sistemas integrados de produção agropecuária em terras baixas**. Porto Alegre: UFRGS, 2018.
- CARREIRO, M. M. *et al.* Microbial enzyme shifts explain litter decay responses to simulated nitrogen deposition. **Ecology**, Washington, DC, v. 81, p. 2359–2365, 2000.
- CARVALHO, P. C. F. *et al.* Manejo da integração lavoura-pecuária para a região de clima subtropical. In: ENCONTRO NACIONAL DE PLANTIO DIRETO NA PALHA, 2006, Uberaba - MG. **Resumos [...]**. Uberaba: FEBRAPD, 2006. p. 177–184.
- CASSMAN, K. G. *et al.* Nitrogen use efficiency of rice reconsidered: what are the key constraints? **Plant and Soil**, The Hague, v. 155, p. 359–362, 1993.
- CASSMAN, K. G. *et al.* Yield decline and the nitrogen economy of long-term experiments on continuous, irrigated rice systems in the tropics. In: LAL, R.; STEWART, B. A. (ed.). **Soil management: experimental basis for sustainability and environmental quality**. Boca Raton: CRC, 1995. p. 181–222.
- CASSMAN, K. G.; DOBERMANN, A.; WALTERS, D. T. Agroecosystems, nitrogen use efficiency, and nitrogen management. **Ambio**, Stockholm, v. 31, p. 132–140, 2002.
- CASSMAN, K. G.; PINGALI, P. L. Extrapolating trends from longterm experiments to farmers' fields: the case of irrigated rice systems in Asia. In: BARNETT, V.; PAYNE, R.; STEINER, R. (ed.). **Agricultural sustainability in economic, environmental, and statistical considerations**. London: John Wiley, 1995. p. 63–84.
- CASTOLDI, G. *et al.* Eficiência de uso do nitrogênio em agroecossistemas. In: SEVERIANO, E. C.; MORAES, M. F.; PAULA, A. M. **Tópicos em ciência do**

solo. [Viçosa, MG]: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2019. v. 10, p. 141–238.

CHEN, R. *et al.* Soil C and N availability determine the priming effect: microbial N-mining and stoichiometric decomposition theories. **Global Change Biology**, Oxford, v. 20, p. 2356–2367, 2014a.

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**, Landsberg, v. 15, p. 292–301, 2014b.

CHENG, S. Super hybrid rice breeding in China: achievements and prospects. **Journal of Integrative Plant Biology**, Guangzhou, v. 49, p. 805–810, 2007.

CHIDTHAISONG, A.; WATANABE, I. Changes in concentration and d¹³C values of soil entrapped CH₄ and CO₂ in flooded rice soil. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 24, p. 70–75, 1997b.

CHIDTHAISONG, A.; WATANABE, I. Methane formation and emission from rice soil incorporated with 13C-labeled rice straw. **Soil Biology & Biochemistry**, Amsterdam, v. 29, p. 1173–1181, 1997a.

CIAMPITTI, I. A.; SALVAGIOTTI, F. New Insights into soybean biological nitrogen fixation. **Agronomy Journal**, Madison, v. 110, n. 4, p. 1185–1196, 2018.

CLEGG, C. D. Impact of cattle grazing and inorganic fertilizer additions to managed grasslands on the microbial community composition of soils. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 31, p. 73–82, 2006.

CLEVELAND, C. C.; LIPTZIN, D. C:N:P stoichiometry in soil: is there a “Redfield ratio” for the microbial biomass? **Biogeochemistry**, The Hague, v. 85, p. 235–252, 2007.

CONAB – COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **A cultura do arroz**. Brasília, DF: CONAB, 2015. Disponível em: <http://www.conab.gov.br>. Acesso em: 10 ago. 2019.

CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Compêndio de estudos Conab**. Brasília, DF: CONAB, 2016. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/institucional/publicacoes/compendio-de-estudos-daconab/item/2899-compendio-de-estudos-da-conab-v-11-evolucao-de-custos-arrozirrigado-gaucho>. Acesso em: 31 ago. 2020.

CONAB – COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Safra 2020/2021: primeiro levantamento. **Acompanhamento da Safra Brasileira: grãos**, Brasília, DF, v. 8, n. 1, p. 1–77, out. 2020. Monitoramento agrícola. Projeto Observatório Agrícola. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos/boletim-da-safra-de-graos>. Acesso em: 20 dez. 2020.

COTRUFO, M. F. et al. Formation of soil organic matter via biochemical and physical pathways of litter mass loss. **Nature Geoscience**, London, v. 8, p. 776–779, 2015.

COTRUFO, M. F. et al. The Microbial Efficiency-Matrix Stabilization (MEMS) framework integrates plant litter decomposition with soil organic matter stabilization: do labile plant inputs form stable soil organic matter? **Global Change Biology**, Oxford, v. 19, p. 988–995, 2013.

COUCE, P. A.; KEISLING, T. C.; MITCHELL, A. An uniform, objective, and adaptive system for expressing rice development. **Crop Science**, New York, v. 40, p. 436–443, 2000.

COX, M. S. et al. Variability of selected soil properties and their relationships with soybean yield. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 67, p. 1296–1302, 2003.

ČUHEL, J.; MALÝ, S.; KRÁLOVEC, J. Shifts and recovery of soil microbial communities in a 40-year field trial under mineral fertilization. **Pedobiologia**, Jena, v. 77, [art.] 150575, [p. 1–10], 2019.

CUI, J. et al. Carbon and nitrogen recycling from microbial necromass to cope with C: N stoichiometric imbalance by priming. **Soil Biology & Biochemistry**, Amsterdam, v. 142, [art.] 107720, [p. 1-13], 2020.

CUI, Z. L. et al. On-farm evaluation of an in-season nitrogen management strategy based on soil N min test. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 105, p. 48–55, 2008b.

Cui, Z. L. et al. On-farm evaluation of the improved soil N min-based nitrogen management for summer wheat in North China Plain. **Agronomy Journal**, Madison, v. 100, p. 517–525, 2008a.

CULMAN, S. W. et al. Short- and long-term labile soil carbon and nitrogen dynamics reflect management and predict corn agronomic performance. **Agronomy Journal**, Madison, v. 105, p. 493–502, 2013.

DALAI, R. C. Soil microbial biomass—what do the numbers really mean? **Australian Journal of Experimental Agriculture**, East Melbourne, v. 38, p. 649–665, 1998.

DENARDIN, L. G. O. et al. Geração do conhecimento. In: CARMONA, F. C. et al. (ed.). **Sistemas integrados de produção agropecuária em terras baixas**. Porto Alegre: UFRGS, 2018. p. 39–100.

DENARDIN, L. G. O. et al. No-tillage increases irrigated rice yield through soil quality improvement along time. **Soil & Tillage Research**, Amsterdam, v. 186, p. 64–69, 2019.

DENARDIN, L. G. O. Integrated crop–livestock systems in paddy fields: new strategies for flooded rice nutrition. **Agronomy Journal**, Madison, v. 112, p. 2219–2229, 2020.

DERPSCH, R. Conservation tillage, no-tillage and related technologies. In: GARCÍA-TORRES, L. et al. (ed.). **Conservation agriculture**: environment, farmers experiences, innovations, socio-economy, policy. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2003. p. 181–190.

DERPSCH, R.; FRIEDRICH, T. **Development and current status of no-till adoption in the world**. In: TRIENNIAL CONFERENCE OF THE INTERNATIONAL SOIL TILLAGE RESEARCH ORGANIZATION, 18., 2009, Izmir, Turkey. **Proceedings** [...]. [The Netherlands]: ISTRO, 2009. Abstract T1-041.

DING, J. et al. Effect of 35 years inorganic fertilizer and manure amendment on structure of bacterial and archaeal communities in black soil of northeast China. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 105, p. 187–195, 2016.

DOBERMANN, A. et al. Fertilizer inputs, nutrient balance, and soil nutrient-supplying power in intensive, irrigated rice systems. II: Effective soil K-supplying capacity. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, Dordrecht, v. 46, n. 1, p. 11–21, 1996.

DOBERMANN, A. Nutrient use efficiency—measurement and management. In: IFA INTERNATIONAL WORKSHOP ON FERTILIZER BEST MANAGEMENT PRACTICES, 2007, Brussels. [Proceedings ...]. Paris: International Fertilizer Industry Association, 2007. p. 1–28.

DOBERMANN, A.; FAIRHURST, T. **Rice**: nutrient disorders & nutrient management. Singapore : ESEAP, 2000. 193 p. (Handbook Series).

DRESCHER, G. L. et al. Alkaline hydrolyzable nitrogen and properties that dictate its distribution in paddy soil profiles. **Pedosphere**, Beijing, v. 30, p. 326–335, 2020.

DUNGAIT, J. A. J. et al. Soil organic matter turnover is governed by accessibility not recalcitrance. **Global Change Biology**, Oxford, v. 18, p. 1781–1796, 2012.

EAGLE, A. J. et al. Nitrogen dynamics and fertilizer use efficiency in rice following straw incorporation and winter flooding. **Agronomy Journal**, Madison, v. 93, p. 1346–1354, 2001.

EL-SAHWAY, A. S.; MAHMOUD, M. M. A.; UDEIGWE, T. K. Alterations in soil chemical properties induced by continuous rice cultivation: a study on the arid nile delta soils of egypt. **Land Degradation & Development**, Chichester, v. 238, p. 231–238, 2016.

EMBRAPA – EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Sistema brasileiro de classificação de solos.** 2. ed. Rio de Janeiro: Embrapa, Centro Nacional de Pesquisa de Solos, 2006. 306 p.

ENO, C. F. et al. The effect of anhydrous ammonia on nematodes, fungi, bacteria, and nitrification in some Florida soils. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 19, p. 55–58, 1955.

FAGERIA, N. K.; BALIGAR, V. C. Enhancing nitrogen use efficiency in crop plants. **Advances in Agronomy**, San Diego, v. 88, n. 1, p. 97–185, 2005.

FAGERIA, N. K.; BALIGAR, V. C. Methodology for evaluation of lowland rice genotypes for nitrogen use efficiency. **Journal of Plant nutrition**, Athens, v. 26, p. 1315–1333, 2003.

FAGERIA, N. K.; BALIGAR, V. C.; JONES, C. A. **Growth and mineral nutrition of field crops.** 2nd ed. New York: Marcel Dekker, 1997.

FAGERIA, N. K.; SANTOS, A. B.; CUTRIM, V. Produtividade de arroz irrigado e eficiência de uso do nitrogênio influenciados pela fertilização nitrogenada. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 42, n. 7, p. 1029–1034, 2007.

FAKRUDDIN, M. et al. Methods for analyzing diversity of microbial communities in natural environments. **Ceylon Journal of Science**, Oxford, v. 42, n. 1, p. 19–33, 2013.

FANIN, N. et al. The ratio of Gram-positive to gram-negative bacterial PLFA markers as an indicator of carbon availability in organic soils. **Soil Biology & Biochemistry**, Amsterdam, v. 128, p. 111–114, 2019.

FANIN, N.; HÄTTENSCHWILER, S.; FROMIN, N. Litter fingerprint on microbial biomass, activity, and community structure in the underlying soil. **Plant and Soil**, The Hague, v. 379, p. 79–91, 2014.

FAO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Production/yield quantities of rice, paddy in Brazil.** [Base de Dados FAOSTAT]. Rome: FAO, 2013. Disponível em: <http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/E>. Acesso em: 21 set. 2019.

FARIAS, G. D. et al. Integrated crop-livestock system with system fertilization approach improves food production and resource-use efficiency in agricultural lands. **Agronomy for Sustainable Development**, Paris, v. 40, p. 1–9, 2020.

FARRELL, M. E. Oligopeptides represent a preferred source of organic N uptake: a global phenomenon? **Ecosystems**, New York, v. 16, p.133–145, 2013.

FATONDJI, D. et al. Decomposition of organic amendment and nutrient release under the zai technique in the Sahel. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, Dordrecht, v. 85, p. 225–239, 2009.

FENG, H. *et al.* Nitrogen regulates the grain yield, antioxidant attributes, and nitrogen metabolism in fragrant Rice grown under Lead-contaminated soil. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, Chillán, v. 20, p. 2099–2111, 2020.

FENG, Y. *et al.* Effects of no-tillage and direct broadcasting on soil physical and chemical properties and growth and yield formation in hybrid rice. **Acta Ecologica Sinica**, Beijing, v. 32, p. 1728–1736, 2006.

FERRARI, A. E. *et al.* Crop rotation and seasonal effects on fatty acid profiles of neutral and phospholipids extracted from no-till agricultural soils. **Soil Use and Management**, Oxford, v. 31, n. 1, p. 165–175, 2015.

FERRÉ, C. *et al.* Soil microbial community structure in a rice paddy field and its relationships to CH₄ and N₂O fluxes. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, Dordrecht, v. 93, p. 35–50, 2012.

FERREIRA, A. D. S.; CAMARGO, F. A. D. O.; VIDOR, C. Utilização de microondas na avaliação da biomassa microbiana do solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 23, p. 991–996, 1999.

FIERER, N. *et al.* Global patterns in belowground communities. **Ecology Letters**, Oxford, v. 12, p. 1238–1249, 2009.

FIERER, N.; BRADFORD, M. A.; JACKSON, R. B. Toward an ecological classification of soil bacteria. **Ecology**, Washington, DC, v. 88, p. 1354–1364, 2007.

FIORINI, A. *et al.* Effects of no-till on root architecture and root-soil interactions in a three-year crop rotation. **European Journal of Agronomy**, Amsterdam, v. 99, p. 156–166, 2018.

FLINN, J. C.; DE DATTA, S. K. Trends in irrigated-rice yields under intensive cropping at Philippine research stations. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 9, p. 1–15, 1984.

FOLEY, J. A. *et al.* Global consequences of land use. **Science**, Washington, DC, v. 309, p. 570–574, 2005.

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

FRANZLUEBBERS, A. J.; STUDEMAN, J. A.; FRANKLIN, D. H. Water infiltration and surface-soil structural properties as influenced by animal traffic in the Southern Piedmont USA. **Renewable Agriculture and Food Systems**, Oxford, v. 27, p. 256–265, 2001.

FREITAS, T. F. S. D. et al. Produtividade de arroz irrigado e eficiência da adubação nitrogenada influenciadas pela época da semeadura. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 32, n. 6, p. 2397–2405, 2008.

FROSTEGÅRD, Å.; TUNLID, A.; BÅÄTH, E. Use and misuse of PLFA measurements in soils. **Soil Biology & Biochemistry**, Amsterdam, v. 43, p. 1621–1625, 2011.

GAO, M. et al. Effect of tillage system on soil animal, microorganism and enzyme activity in paddy field. **Chinese Journal of Applied Ecology**, Shenyang Shi, v. 15, p. 1177–1181, 2004.

GARCIA, N. et al. Waterlogging tolerance of five soybean genotypes through different physiological and biochemical mechanisms. **Environmental and Experimental Botany**, Amsterdam, v. 20, [art.] 103975, 2020.

GARCIA-PAUSAS, J.; PATERSON, E. Microbial community abundance and structure are determinants of soil organic matter mineralisation in the presence of labile carbon. **Soil Biology & Biochemistry**, Amsterdam, v. 43, p. 1705–1713, 2011.

GARNETT, T.; CONN, V.; KAISER, B. N. Root based approaches to improving nitrogen use efficiency in plants. **Plant, Cell & Environment**, Hoboken, v. 32, p. 1272–1283, 2009.

GASTAL, F.; BELANGER, G.; LEMAIRE, G. A model of the leaf extension rate of tall fescue in response to nitrogen and temperature. **Annals of Botany**, Oxford, v. 70, p. 437–442, 1992.

GE, T. et al. Biological carbon assimilation and dynamics in a flooded rice–soil system. **Soil Biology & Biochemistry**, Amsterdam, v. 48, p. 39–46, 2012.

GE, T. et al. Rice rhizodeposition and its utilization by microbial groups depends on N fertilization. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 53, p. 37–48, 2017.

GEISSELER, D. et al. Pathways of nitrogen utilization by soil microorganisms: a review. **Soil Biology & Biochemistry**, Amsterdam, v. 42, p. 2058–2067, 2010.

GEISSELER, D.; HORWATH, W. R.; SCOW, K. M. Soil moisture and plant residue addition interact in their effect on extracellular enzyme activity. **Pedobiologia**, Jena, v. 54, p. 71–78, 2011.

GEISSELER, D.; LINQUIST, B. A.; LAZICKI, P. A. Effect of fertilization on soil microorganisms in paddy rice systems-a meta-analysis. **Soil Biology & Biochemistry**, Amsterdam, v. 115, p. 452–460, 2017.

GEISSELER, D.; SCOW, K. M. Long-term effects of mineral fertilizers on soil microorganisms—A review. **Soil Biology & Biochemistry**, Amsterdam, v. 75, p. 54–63, 2014.

GOMES, A. S.; PAULETTO, E. A.; FRANZ, A. F. H. Uso e manejo da água em arroz irrigado. In: GOMES, A. S.; MAGALHÃES JÚNIOR, A. M. (ed.). **Arroz irrigado no Sul do Brasil**. Brasília, DF: Embrapa Informações Tecnológicas, 2004. p. 417–455.

GOSHAL, N.; SINGH, P. K. Effects of farmyard manure and inorganic fertilizer on the dynamics of soil microbial biomass in a tropical dry-land agroecosystem. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 19, p. 231–238, 1995.

GRANDE, M. A.; CURI, N.; QUAGGIO, J. A. Disponibilidade de fósforo pelos extratores de Mehlich e resina, em solos cultivados com arroz irrigado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 10, p. 45–50, 1986.

GREGORICH, E. G. et al. Towards a minimum data set to assess soil organic matter quality in agricultural soils. **Canadian Journal of Soil Science**, Ottawa, v. 74, p. 367–385, 1994.

GRIFFIN, J. L.; BRANDON, D. M. Effect of lowland rice culture on subsequent soybean response to phosphorus fertilization. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 7, p. 195–201, 1983.

GUCKERT, J. B. et al. Phospholipid, ester-linked fatty acid profiles as reproducible assays for changes in prokaryotic community structure of estuarine sediments. **FEMS Microbiology Letters**, Amsterdam, v. 31, p. 147–158, 1985.

GUENET, B. et al. The impact of long-term CO₂ enrichment and moisture levels on soil microbial community structure and enzyme activities. **Geoderma**, Amsterdam, v. 170, p. 331–336, 2012.

GUILLEMIN, J. P. et al. Influence of phosphate fertilization on fungal alkaline phosphatase and succinate dehydrogenase activities in arbuscular mycorrhiza of soybean and pineapple. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, Amsterdam, v. 53, p. 63–69, 1995.

GUNINA, A. et al. Fate of low molecular weight organic substances in an arable soil: from microbial uptake to utilisation and stabilisation. **Soil Biology & Biochemistry**, Amsterdam, v. 77, p. 304–313, 2014.

GUO, G. H. et al. Significant acidification in major Chinese croplands. **Science**, Washington, DC, v. 327, p. 1008–1010, 2010.

GUO, Z. et al. Fertilization regime has a greater effect on soil microbial community structure than crop rotation and growth stage in an agroecosystem. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 149, [art.] 103510, 2020.

HARTMANN, M. et al. Distinct soil microbial diversity under long-term organic and conventional farming. **Multidisciplinary Journal of Microbial Ecology**, Oxford, v. 9, p. 1177–1194, 2015.

- HATCH, D. J. *et al.* Nitrogen mineralization and microbial activity in permanent pastures amended with nitrogen fertilizer or dung. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 30, p. 288–293, 2000.
- HAYNES, R. J.; WILLIAMS, P. H. Influence of stock camping behavior on the soil microbial and biochemical properties of grazed pastoral soils. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 28, n. 3, p. 253–258, 1999.
- HENRIKSEN, T. M.; BRELAND, T. A. Carbon mineralization, fungal and bacterial growth, and enzyme activities as affected by contact between crop residues and soil. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 35, p. 41–48, 2002.
- HOBBS, P. R.; SAYRE, K.; GUPTA, R. The role of conservation agriculture in sustainable agriculture. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, London, v. 363, p. 543–555, 2008.
- HOOD, R. C. *et al.* Estimating crop N uptake from organic residues using a new approach to the ¹⁵N isotope dilution technique. **Plant and Soil**, The Hague, v. 223, p. 33–44, 2000.
- HOU, P. F. *et al.* Paddy-upland rotation for sustainable agriculture with regards to diverse soil microbial community. **Scientific Reports**, London, v. 8, p. 1–9, 2018.
- HU, J. *et al.* Probiotic diversity enhances rhizosphere microbiome function and plant disease suppression. **MBio**, Oxford, v. 7, [art.] e01790-16, [p. 1–8], 2016.
- HU, R. J. *et al.* Farmer participatory testing of standard and modified site-specific nitrogen management for irrigated rice in China. **Agricultural Systems**, Barking, v. 94, p. 331–340, 2007.
- HUANG, M. *et al.* No-tillage effect on rice yield in China: a meta-analysis. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 183 p. 126–137, 2015.
- HUGGINS, D.; PAN, W. Key indicators for assessing nitrogen use efficiency in cereal-based agroecosystems. **Journal of Crop Production**, Amsterdam, v. 8, p. 157–185, 2003.
- IIJIMA, M. *et al.* Productivity and water source of intercropped wheat and rice in a direct-sown sequential cropping system: the effects of no-tillage and drought. **Plant Production Science**, Kyoto, v. 8, p. 368–374, 2005.
- INUBUSHI, K.; WATANABE, I. Microbial biomass nitrogen in anaerobic soil as affected by N-immobilization and N₂-fixation. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, Chillán, v. 33, p. 213–224, 1987.
- IRGA - INSTITUTO RIO GRANDENSE DO ARROZ. **Revisão do custo de produção – safra 2018/2019**. Porto Alegre: IRGA, [2019]. Disponível em: <https://irga-admin.rs.gov.br/upload/arquivos/201905/24135707-custo-revisado-safra-2018-19.pdf>. Acesso em: 28 ago. 2020.

- ISLAM, K. R.; WEIL, R. R. Microwave irradiation of soil for routine measurement of microbial biomass carbon. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 27, p. 408–416, 1998.
- JACKSON, M. B.; COLMER, T. D. Response and adaptation by plants to flooding stress. **Annals of Botany**, Oxford, v. 96, p. 501–505, 2005.
- JANGID, K. *et al.* Relative impacts of land-use, management intensity and fertilization upon soil microbial community structure in agricultural systems. **Soil Biology & Biochemistry**, Amsterdam, v. 40, p. 2843–2853, 2008.
- JENKINSON, D. S.; FOX, R. H.; RAYNER, J. H. Interactions between fertilizer nitrogen and soil nitrogen—the so-called priming effect. **European Journal of Soil Science**, Oxford, v. 36, p. 425–444, 1985.
- JOERGENSEN, R. G.; EMMERLING, C. Methods for evaluating human impact on soil microorganisms based on their activity biomass, and diversity in agricultural soils. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, Weinheim, v. 169, p. 295–309, 2006.
- JOHNSON, N. C.; PFLEGER, F. L. Vesicular-arbuscular mycorrhizae and cultural practices. In: BETHLENFALVAY, G. J.; LINDERMAN, R. G. (ed.). **Mycorrhizae in sustainable agriculture**. Madison: ASA, CSSA, SSSA, 1992. (ASA Special Publication, 54). p. 71–99.
- JOSHI, A. K. *et al.* Breeding crops for reduced-tillage management in the intensive, rice–wheat systems of South Asia. **Euphytica**, Dordrecht, v. 153, p. 135–151, 2007.
- KADER, M. A. *et al.* Nitrogen mineralization in sub-tropical paddy soils in relation to soil mineralogy, management, pH, carbon, nitrogen and iron contents. **European Journal of Soil Science**, Oxford, v. 64, p. 47–57, 2013.
- KAISER, C. *et al.* Microbial community dynamics alleviate stoichiometric constraints during litter decay. **Ecology Letters**, Oxford, v. 17, p. 680–690, 2014.
- KALLENBACH, C.; GRANDY, A. S. Controls over soil microbial biomass responses to carbon amendments in agricultural systems: a meta-analysis. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, Amsterdam, v. 144, p. 241–252, 2011.
- KAMBLE, P. N.; BÅÅTH, E. Comparison of fungal and bacterial growth after alleviating induced N-limitation in soil. **Soil Biology & Biochemistry**, Amsterdam, v. 103, p. 97–105, 2016.
- KELLER, J. K. *et al.* Limited effects of six years of fertilization on carbon mineralization dynamics in a Minnesota fen. **Soil Biology & Biochemistry**, Amsterdam, v. 37, p. 1197–1204, 2005.

- KIMURA, M. *et al.* Microbiota responsible for the decomposition of rice straw in a submerged paddy soil estimated from phospholipid fatty acid composition. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, Chillán, v. 47, p. 569–578, 2001.
- KÖGEL-KNABNER, I. *et al.* Biogeochemistry of paddy soils. **Geoderma**, Amsterdam, v. 157, p. 1–14, 2010.
- KOTTEK, M. *et al.* World map of the Köppen-Geiger climate classification updated. **Meteorologische Zeitschrift**, Vienna, v. 15, p. 259–263, 2006.
- KRAMER, C.; GLEIXNER, G. Soil organic matter in soil depth profiles: distinct carbon preferences of microbial groups during carbon transformation. **Soil Biology & Biochemistry**, Amsterdam, v. 40, p. 425–433, 2008.
- KRAMER, S. *et al.* Carbon flow into microbial and fungal biomass as a basis for the belowground food web of agroecosystems. **Pedobiologia**, Jena, v. 55, p. 111–119, 2012.
- KROPFF, M. J. *et al.* Nitrogen and yield potential of irrigated rice. **Plant and Soil**, The Hague, v. 155, p. 391–394, 1993.
- 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, p. 2441–2460, 2003.
- KUMAR, V.; LADHA, J. K. Direct seeding of rice : recent developments and future research needs. **Rice**, New York, v. 111, p. 297–413, 2011.
- KUZYAKOV, Y.; FRIEDEL, J. K.; STAHR, K. Review of mechanisms and quantification of priming effects. **Soil Biology & Biochemistry**, Amsterdam, v. 32, p. 1485–1498, 2000.
- KUZYAKOV, Y.; XU, X. L. Tansley review: competition between roots and microorganisms for nitrogen: mechanisms and ecological relevance. **New Phytologist**, Oxford, v. 198, p. 656–669, 2013.
- LADHA, J. K. *et al.* Role of nitrogen fertilization in sustaining organic matter in cultivated soils. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v. 40, p. 1756–1766, 2011.
- LAL, R. Effects of 6 years of continuous no-till or puddling systems on soil properties and rice (*Oryza sativa*) yield of a loamy soil. **Soil & Tillage Research**, Amsterdam, v. 8, p. 181–200, 1986.
- LAL, R. Restoring soil quality to mitigate soil degradation. **Sustainability**, Basel, v. 8, p. 5875–5895, 2015.
- LARCHER, W. **Ecofisiología vegetal**. São Carlos: Rima Artes e Textos, 2000. 531 p.

- LARKIN, R. P. Relative effects of biological amendments and crop rotations on soil microbial communities and soilborne diseases of potato. **Soil Biology & Biochemistry**, Amsterdam, v. 40, p. 1341–1351, 2008.
- LABELLE, P.; SPAIN, A. V. **Soil ecology**. Dordrecht: Kluwer Academic, 2001. 654 p.
- LECHEVALIER, M. P. Lipids in bacterial taxonomy. In: O'LEARY, W. M. (ed.). **Practical handbook of microbiology**. Boca Raton: CRC, 1989. p. 455–561.
- LEFEUVRE, J. C.; BOUCHARD, V. Wetlands and biodiversity. In: LAL, R. (ed.). **Encyclopedia of soil science**. New York: Dekker, 2002. p. 1412–1415.
- LEHMANN, J.; KLEBER, M. The contentious nature of soil organic matter. **Nature**, London, v. 528, p. 60–68, 2015.
- LEWIS, D. B. et al. Labile carbon and other soil quality indicators in two tillage systems during transition to organic agriculture. **Renewable Agriculture and Food Systems**, Oxford, v. 26, p. 342–353, 2011.
- LI, Y. et al. Soil microbial C:N ratio is a robust indicator of soil productivity for paddy fields. **Scientific Reports**, London, v. 6, [art.] 35266, 2016.
- LIN, M. H.; GRESSHOFF, P. M.; FERGUSON, B. J. Systemic regulation of soybean nodulation by acidic growth conditions. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 160, p. 2028–2039, 2012.
- LIU, D. Y.; SONG, C. C. Effects of phosphorus enrichment on mineralization of organic carbon and contents of dissolved carbon in a freshwater marsh soil. **China Environmental Science Press**, Beijing, v. 28, p. 769–774, 2008.
- LIU, L. L.; GREAVER, T. L. A global perspective on belowground carbon dynamics under nitrogen enrichment. **Ecology Letters**, Oxford, v. 13, p. 819–828, 2010.
- LIU, Q. et al. Nitrogen acquisition by plants and microorganisms in a temperate grassland. **Scientific Reports**, London, v. 6, [art.] 22642, 2016.
- LIU, Y. et al. Carbon input and allocation by rice into paddy soils: a review. **Soil Biology & Biochemistry**, Amsterdam, v. 133, p. 97–107, 2019.
- LU, M. et al. Responses of ecosystem nitrogen cycle to nitrogen addition: a meta-analysis. **New Phytologist**, Oxford, v. 189, p. 1040–1050, 2011.
- LU, Y.; ABRAHAM, W. R.; CONRAD, R. Spatial variation of active microbiota in the rice rhizosphere revealed by in situ stable isotope probing of phospholipid fatty acids. **Environmental Microbiology**, Washington, DC, v. 9, p. 474–481, 2007.

- MAE, T. Physiological nitrogen efficiency in rice: nitrogen utilization, photosynthesis, and yield potential. **Plant and Soil**, The Hague, v. 196, p. 201–210, 1997.
- MAKINO, A.; MAE, T.; OHIRA, K. Changes in photosynthetic capacity in rice leaves from emergence through senescence. Analysis from ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase and leaf conductance. **Plant Cell Physiology**, Oxford, v. 25, p. 511–521, 1984.
- MANGUIAT, I. J. *et al.* Prediction of nitrogen availability and rice yield in lowland soils: Nitrogen mineralization parameters. **Plant and Soil**, The Hague, v. 160, p. 131–137, 1994.
- MARSCHNER, P.; KANDELER, E.; MARSCHNER, B. Structure and function of the soil microbial community in a long-term fertilizer experiment. **Soil Biology & Biochemistry**, Amsterdam, v. 35, p. 453–461, 2003.
- MARTINEZ-GARCIA, L. B. *et al.* Organic management and cover crop species steer soil microbial community structure and functionality along with soil organic matter properties. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, Amsterdam, v. 263, p. 7–17, 2018.
- 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**, Chichester, v. 28, p. 534–542, 2017.
- MARTINS, A. P. *et al.* Soil acidification and basic cation use efficiency in an integrated no-till crop-livestock system under different grazing intensities. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, Amsterdam, v. 195, p. 18–28, 2014.
- MARZLUF, G. A. Genetic regulation of nitrogen metabolism in the fungi. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, Washington, DC, v. 61, p. 17–32, 1997.
- MATSON, P. A. *et al.* Agricultural intensification and ecosystem properties. **Science**, London, v. 277, p. 504–509, 1997.
- MAZZONCINI, M. *et al.* Longterm effect of tillage, nitrogen fertilization and cover crops on soil organic carbon and total nitrogen content. **Soil & Tillage Research**, Amsterdam, v. 114, p. 165–174, 2011.
- MCNAUGHTON, S. J. Ecology of grazing ecosystem: the Serengeti. **Ecological Monographs**, Washington, DC, v. 55, n. 3, p. 259–295, 1992.
- MELI, S. M. *et al.* Respiratory responses of soil micro-organisms to simple and complex organic substrates. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 37, p. 96–101, 2003.

MENEZES, V. G. et al. **Estratégias de manejo para aumento da produtividade da sustentabilidade da lavoura de arroz do RS: avanços e novos desafios.** Porto Alegre: IRGA, 2012. 104 p.

MERRICK, M. J.; EDWARDS, R. A. Nitrogen control in bacteria. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, Washington, DC, v. 59, p. 604–622, 1995.

MIELNICZUK, J. et al. Manejo de solo e culturas e sua relação com os estoques de carbono e nitrogênio do solo. In: CURI, N. et al. (ed.). **Tópicos em ciência do solo.** Viçosa, MG: SBCS, 2003. v. 3, p. 209-248.

MIKKELSEN, D. S. Nitrogen budgets in flooded soils used for rice production. **Plant and Soil**, The Hague, v. 100, p. 71–97, 1987.

MILLER, M.; DICK, R. Thermal stability and activities of soil enzymes as influenced by crop rotations. **Soil Biology & Biochemistry**, Amsterdam, v. 27, p. 1161–1166, 1995.

MIURA, A. K. et al. **Discriminação e delimitação das terras baixas no Estado do Rio Grande do Sul:** primeira aproximação. Pelotas: Embrapa, 2015. 12 p. (Comunicado Técnico, 313).

MOLL, R.; KAMPRATH, E.; JACKSON, W. Analysis and interpretation of factors which contribute to efficiency of nitrogen utilization. **Agronomy Journal**, Madison, v. 74, p. 562–564, 1982.

MORROW, J. G. et al. Evaluating measures to assess soil health in long-term agroecosystem trials. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 80, p. 450–462, 2016.

MOTT, G. O.; LUCAS, H. L. The design, conduct, and interpretation of grazing trials on cultivated and improved pastures. In: INTERNATIONAL GRASSLAND CONGRESS, 6., 1952, Pennsylvania. **Proceedings [...].** Pennsylvania: State College Press, 1952. p. 1380–1385.

MYERS, R. J. K. et al. The synchronization of nutrient mineralization and plant nutrient demand. In: WOOMER, P. L.; SWIFT, M. J. (org.). **The biological management of tropical soil fertility.** Chichester: John Wiley, 1994. p. 81–116.

NAKAMURA, A. et al. Microbial community responsible for the decomposition of rice straw in a paddy field: estimation by phospholipid fatty acid analysis. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 38, p. 288–295, 2003.

NARTEH, L. T.; SAHRAWAT, K. L. Potentially mineralizable nitrogen in West African lowland rice soils. **Geoderma**, Amsterdam, v. 76, p. 145–154, 1997.

NEMERGUT, D. R. et al. Plot-scale manipulations of organic matter inputs to soils correlate with shifts in microbial community composition in a lowland tropical rain forest. **Soil Biology & Biochemistry**, Amsterdam, v. 42, p. 2153–2160, 2010.

- NEMERGUT, D. R. *et al.* The effects of chronic nitrogen fertilization on alpine tundra soil microbial communities: implications for carbon and nitrogen cycling. **Environmental Microbiology**, Washington, DC, v. 10, p. 3093–3105, 2008.
- NING, C. *et al.* Mineral fertilizers with recycled manure boost crop yield and P balance in a long-term field trial. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, Dordrecht, v. 116, p. 271–283, 2020.
- NOTTINGHAM, A. T. *et al.* Soil priming by sugar and leaf-litter substrates: a link to microbial groups. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 42, p. 183–190, 2009.
- OLSSON, P. A.; BAATH, E.; JAKOBSEN, I. Phosphorus effects on the mycelium and storage structures of an arbuscular mycorrhizal fungus as studied in the soil and roots by analysis of fatty acid signatures. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, DC, v. 63, p. 3531–3538, 1997.
- OMAR, S. A.; ISMAIL, M. A. Microbial populations, ammonification and nitrification in soil treated with urea and inorganic salts. **Folia Microbiologica**, Praha, v. 44, p. 205–212, 1999.
- PAMPOLINO, M. F. *et al.* Environmental impact and economic benefits of site-specific nutrient management (SSNM) in irrigated rice systems. **Agricultural Systems**, Barking, v. 93, p. 1–24, 2007.
- PAN, Y. *et al.* Impact of long-term N, P, K, and NPK fertilization on the composition and potential functions of the bacterial community in grassland soil. **FEMS Microbiology Ecology**, Amsterdam, v. 90, p. 195–205, 2014.
- PARKERS, R. J.; TAYLOR, J. The relationship between fatty acid distributions and bacterial respiratory types in contemporary marine sediments. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, Oxford, v. 16, p. 173–189, 1983.
- PAUL, E. A. **Soil microbiology, ecology, and biochemistry**. 3rd ed. Amsterdam: Academic Press, 2007.
- PAULETTO, E. A. *et al.* Manejo de solos de várzea. In: GOMES, A. S.; PAULETTO, E. A. (ed.). **Manejo de solo e da água em áreas de várzea**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 1999. p. 61-85.
- PAYNE, W. J. Energy yields and growth of heterotrophs. **Annual Reviews in Microbiology**, Palo Alto, v. 24, p. 17-52, 1970.
- PEIXOTO, R. S. *et al.* A decade of land use contributes to changes in the chemistry, biochemistry and bacterial community structures of soils in the Cerrado. **Antonie van Leeuwenhoek**, Berlin, v. 98, p. 403–413, 2010.
- PENG, S. B. *et al.* Improving nitrogen fertilization in rice by site-specific N management. A review. **Agronomy for Sustainable Development**, Paris, v. 30, p. 649–656, 2010.

PENG, S. et al. Increased n-use efficiency a chlorophyll meter on high-yielding irrigated rice. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 47, p. 243–252, 1996.

PERROT, K. W.; SARATHCHANDRA, S. U. Phosphorus in the microbial biomass of New Zealand soils under established pasture. **New Zealand Journal of Agricultural Research**, Wellington, v. 32, p. 409–413, 1989.

PETERSON, C. A. et al. Winter grazing does not affect soybean yield despite lower soil water content in a subtropical crop-livestock system. **Agronomy for Sustainable Development**, Paris, v. 39, [art.] 26, 2019.

PINHEIRO, J. et al. **nlme**: linear and nonlinear mixed effects models: R package version 3.1–152. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, [2021]. Disponível em: <https://CRAN.R-project.org/package=nlme>. Acesso em: 16 jan. 2021.

PINKART, H. C. et al. Biochemical approaches to biomass measurements and community structure analysis. In: HURST, C. J. et al. (ed.). **Manual of environmental microbiology**. 2nd ed. Washington, DC: ASM Press, 2002. p 101–113.

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, DF: Embrapa, 2004. p. 75-96.

PIRES, C. A. B. et al. Diversified crop rotation with no-till changes microbial distribution with depth and enhances activity in a subtropical Oxisol. **European Journal of Soil Science**, Oxford, v. 71, p. 1173–1187, 2020.

PITTELKOW, C. M. et al. Productivity limits and potentials of the principles of conservation agriculture. **Nature**, London, v. 517, p. 365–368, 2014.

PONNAMPERUMA, F. N. Physicochemical properties of submerged soils in relation to fertility. 5. ed. Los Baños: IRRI, 1977. 32 p.

PONNAMPERUMA, F. N. The chemical of submerged soils. **Advances in Agronomy**, San Diego, v. 24, p. 29–96, 1972.

R CORE TEAM. **R**: a language and environment for statistical computing. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2020. Disponível em: <https://www.R-project.org/>. Acesso em: 16 jan. 2021.

RAMIREZ, K. et al. Consistent effects of nitrogen fertilization on the phylogenetic composition of soil bacterial communities in contrasting systems. **Ecology**, Washington, DC, v. 91, p. 3463–3470, 2010.

REEDER, J. D.; SCHUMAN, G. E. Influence of livestock grazing on C sequestration in semi-arid mixed-grass and short-grass rangelands. **Environmental Pollution**, London, v. 116, p. 457–463, 2002.

REHMAN, H. U.; BASRA, S. M. A.; WAHID, A. Optimizing nitrogen-split application time to improve dry matter accumulation and yield in dry direct seeded rice. **International Journal of Agriculture and Biology**, Faisalabad, v. 15, p. 41–47, 2013.

REICHARDT, W. et al. Microbial communities of continuously cropped, irrigated rice fields. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, DC, v. 63, p. 233–238, 1997.

REICHARDT, W. et al. Microbial population shifts in experimental rice systems. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 17, p. 151–163, 2001.

REIS, J. C. L. et al. **Racionalização da aplicação de calcário e fertilizantes para o aumento da sustentabilidade e rentabilidade da integração arroz-pastagens**. Pelotas: Embrapa, 2008. 6 p. (Comunicado Técnico, 199).

ROBERTS, T. L. et al. Direct steam distillation as an alternative to the Illinois soil nitrogen test. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 73, p. 1268–1275, 2009.

SÁ, J. C. M. et al. Carbon depletion by plowing and its restoration by no-till cropping systems in oxisols of subtropical and tropical agro-ecoregions in Brazil. **Land Degradation & Development**, Chichester, v. 543, p. 531–543, 2013.

SAHRAWAT, K. L. Ammonification in air-dried lowland Histosols. **Soil Biology Biochemistry**, Elmsford, v. 13, p. 323–324, 1981.

SAHRAWAT, K. L. Fertility and organic matter in submerged rice soils. **Current Science**, Bangalore, v. 88, p. 735–739, 2005.

SAHRAWAT, K. L. Nitrogen availability indexes for submerged rice soils. **Advances in Agronomy**, San Diego, v. 36, p. 415–451, 1983.

SAHRAWAT, K. L. Organic matter accumulation in submerged soils. **Advances in Agronomy**, San Diego, v. 81, p. 170-203, 2004.

SAHRAWAT, K. L. Soil fertility in flooded and non-flooded irrigated rice systems. **Archives of Agronomy and Soil Science**, Berlin, v. 58, p. 432–436, 2012.

SAIBRO, J. C.; SILVA, J. L. S. Integração sustentável do sistema arroz x pastagens utilizando misturas forrageiras de estação fria no litoral norte do Rio Grande do Sul. In: CICLO DE PALESTRAS EM PRODUÇÃO E MANEJO DE BOVINOS DE CORTE, 1999, Canoas. **Anais** [...]. Canoas: Editora da ULBRA, 1999. p. 27-56.

SANTOS, V. B. et al. Biomassa, atividade microbiana e teores de carbono e nitrogênio totais de um planossolo sob diferentes sistemas de manejo. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 10, n. 3, p. 333–338, 2004.

SARTO, M. V. M. *et al.* Soil microbial community, enzyme activity, C and N stocks and soil aggregation as affected by land use and soil depth in a tropical climate region of Brazil. **Archives of Microbiology**, Amsterdam, v. 202, p. 2809–2824, 2020.

SBCS - SOCIEDADE BRASILEIRA DE CIÊNCIA DO SOLO. **Manual de adubação e calagem para os Estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina**. 10. ed. Porto Alegre: SBCS. Núcleo Regional Sul, 2004. 400 p.

SBCS - SOCIEDADE BRASILEIRA DE CIÊNCIA DO SOLO. **Manual de calagem e adubação para os Estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina**. 11. ed. Porto Alegre: SBCS. Núcleo Regional Sul, 2016. 376 p.

SCHIMEL, J. P.; WEINTRAUB, M. N. The implications of exoenzyme activity on microbial carbon and nitrogen limitation in soil: a theoretical model. **Soil Biology & Biochemistry**, Amsterdam, v. 35, p. 549–563, 2003.

SCHOENFELD, R. *et al.* Resposta do arroz irrigado a níveis de adubação em experimento de longa duração. In: FERTBIO, 2012, Maceió. **Anais** [...]. Viçosa, MG: SBCS, 2012. p. 1–5.

SHAFI, M. *et al.* Soil C and N dynamics and maize yield as affected by cropping systems and residue management in North-western Pakistan. **Soil & Tillage Research**, Amsterdam, v. 94, p. 520–529, 2007.

SHARIFF, A. R. *et al.* Grazing intensity effects on litter decompositions and soil nitrogen mineralization. **Journal of Range Management**, Denver, v. 47, p. 444–449, 1994.

SILVA, A. S. *et al.* Microbial characteristics of soils under an integrated crop-livestock system. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 39, p. 40–48, 2015.

SINGH, V. K. *et al.* Optimizing nutrient management strategies for rice-wheat system in the Indo- Gangetic Plains and adjacent region for higher productivity, nutrient use efficiency and profits. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 164, p. 30–44, 2014.

SINGH, V. K.; SHARMA, B. B.; DWIVEDI, B. S. The impact of diversification of a rice-wheat cropping system on crop productivity and soil fertility. **Journal of Agricultural Science**, London, v. 139, n. 4, p. 405–412, 2002.

SINGH, V. K.; SHARMA, B. B.; DWIVEDI, B. S. The impact of diversification of a rice-wheat cropping system on crop productivity and soil fertility. **Journal of Agricultural Science**, London, v. 139, p. 405–412, 2020.

SINGH, Y. *et al.* Nitrogen and residue management effects on agronomic productivity and nitrogen use efficiency in rice–wheat system in Indian Punjab. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, Dordrecht, v. 84, p. 141–154, 2009.

SINSABAUGH, R. L. Phenol oxidase, peroxidase and organic matter dynamics of soil. **Soil Biology & Biochemistry**, Amsterdam, v. 42, p. 391–404, 2010.

SIX, J.; ELLIOT, E. T.; PAUSTIAN, K. Soil microaggregate turnover and microaggregate formation: a mechanism for C organic under no-tillage agriculture. **Soil Biology & Biochemistry**, Amsterdam, v. 32, n. 14, p. 2099–2103, 2000.

SIX, J.; ELLIOTT, E. T.; PAUSTIAN, K. Aggregate and soil organic matter dynamics under conventional and no-tillage systems. **Soil science Society of America**, Madison, v. 63, p. 1350–1358, 1999.

SOIL SURVEY STAFF. **Keys to soil taxonomy**. Washington, DC: U.S. Department of Agriculture. Natural Resources Conservation Service, 2010.

SOSBAI - SOCIEDADE SUL-BRASILEIRA DE ARROZ IRRIGADO. Arroz irrigado: recomendações técnicas da pesquisa para o Sul do Brasil/Sociedade Sul-Brasileira de arroz irrigado. *In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ARROZ IRRIGADO*, 4.; REUNIÃO DA CULTURA DO ARROZ IRRIGADO, 26., 2005, Santa Maria, RS. [Anais...]. Porto Alegre: SOSBAI, 2005.

SOSBAI - SOCIEDADE SUL-BRASILEIRA DE ARROZ IRRIGADO. Arroz irrigado: recomendações técnicas da pesquisa para o Sul do Brasil. *In: REUNIÃO TÉCNICA DA CULTURA DO ARROZ IRRIGADO*, 32., 2018, Farroupilha, RS. [Anais...]. Cachoeirinha: SOSBAI, 2018. 205 p.

SOSBAI - SOCIEDADE SUL-BRASILEIRA DE ARROZ IRRIGADO. Arroz irrigado: recomendações técnicas da pesquisa para o Sul do Brasil. *In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ARROZ IRRIGADO*, 5.; REUNIÃO DA CULTURA DO ARROZ IRRIGADO, 27., 2007, Pelotas, RS. [Anais...]. Pelotas: SOSBAI, 2007. 154 p.

SOSBAI - SOCIEDADE SUL-BRASILEIRA DE ARROZ IRRIGADO. Arroz irrigado: recomendações técnicas da pesquisa para o Sul do Brasil. *In: REUNIÃO TÉCNICA DA CULTURA DO ARROZ IRRIGADO*, 31., 2016, Bento Gonçalves, RS. [Anais...]. Pelotas: SOSBAI, 2016. 200 p.

SOUSA, R. O.; CAMARGO, A. O.; VAHL, L. C. Solos alagados (reações de REDOX). *In: MEURER, E. J. (ed.). Fundamentos de química do solo*. Porto Alegre: Evangraf, 2015. p. 201-242.

SOUSSANA, J. F.; LEMAIRE, G. Coupling carbon and nitrogen cycles for environmentally sustainable intensification of grasslands and crop-livestock systems. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, Amsterdam, v. 190, p. 9–17, 2014.

SOUZA, E. D.; COSTA, S. E. V. G. A.; ANGHINONI, I. Soil quality indicators in a Rhodic Paleudult under long term tillage systems. **Soil & Tillage Research**, Amsterdam, v. 139, p. 28–36, 2014.

- STARK, S.; GRELLMANN, D. Soil microbial responses to herbivory in an arctic tundra heath at two levels of nutrient availability. **Ecology**, Washington, DC, v. 83, n. 10, p. 2736-2744, 2002.
- TANG, X. *et al.* Effects of conservational tillage on aggregate composition and organic carbon storage in purple paddy soil. **Chinese Journal of Applied Ecology**, Shenyang Shi, v. 18, p. 1027–1032, 2007.
- TEDESCO, M. J. *et al.* **Análises de solo, plantas e outros**. Porto Alegre: UFRGS. Departamento de Solos, 1995.
- THOMAS, A. L.; LANGE, C. E. (org.) **Soja em solos de várzea do sul do Brasil**. Porto Alegre: Evangraf, 2014. 127 p.
- THUY, N. H. *et al.* Nitrogen supply in rice-based cropping systems as affected by crop residue management. **Soil Science Society of American**, Madison, v. 72, p. 514–523, 2008.
- TIAN, W. *et al.* Responses of microbial activity, abundance, and community in wheat soil after three years of heavy fertilization with manure-based compost and inorganic nitrogen. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, Amsterdam, v. 213, p. 219–227, 2015.
- TIMM, A. U. *et al.* Energy partitioning and evapotranspiration over a rice paddy in Southern Brazil. **Journal of Hydrometeorology**, London, v. 15, p. 1975–1988, 2014.
- TISDALL, J. M.; OADES, J. M. Organic matter and water-stable aggregates in soil. **European Journal of Soil Science**, Oxford, v. 33, p. 141–63, 1982.
- TRAN BA, L. *et al.* Effect of cropping system on physical properties of clay soil under intensive rice cultivation. **Land Degradation & Development**, Chichester, v. 982, p. 973–982, 2016.
- TRESEDER, K. K. Nitrogen additions and microbial biomass: a meta-analysis of ecosystem studies. **Ecology Letters**, Oxford, v. 11, p. 1111–1120, 2008.
- VAHL, L. C. Fertilidade de solos de várzea. In: GOMES, A. S.; PAULETTO, E. A. (ed.). **Manejo de solo e da água em áreas de várzea**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 1999. p. 119-162.
- VEDELAGO, A. *et al.* Redução da infestação de arroz-vermelho na soja cultivada em várzea com herbicidas de ação residual. In: REUNIÃO DE PESQUISA DE SOJA DA REGIÃO SUL, 39., 2012, Passo Fundo. **Anais** [...]. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2012. p. 10-15.
- VELOSO, M. G. *et al.* High carbon storage in a previously degraded subtropical soil under no-tillage with legume cover crops. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, Amsterdam, v. 268, p. 15–23, 2018.

- VESTAL, J. R.; WHITE, D. C. Lipid analysis in microbial ecology: quantitative approaches to the study of microbial communities. **BioScience**, Oxford, v. 39, p. 535–541, 1989.
- VEZZANI, F. M.; MIELNICZUK, J. Uma visão sobre qualidade do solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 33, n. 4, p. 743–755, 2009.
- VILLEGRAS-PANGGA, G.; BLAIR, G.; LEFROY, R. Measurement of decomposition and associated nutrient release from straw (*Oryza sativa L.*) of different rice varieties using a perfusion system. **Plant and Soil**, The Hague, v. 223, p. 1–11, 2000.
- WAN, X. *et al.* Soil C:N ratio is the major determinant of soil microbial community structure in subtropical coniferous and broadleaf forest plantations. **Plant and Soil**, The Hague, v. 387, p. 103–116, 2014.
- WANDER, M. Soil organic matter fractions and their relevance to soil function. In: MAGDOFF, F.; WEIL, R. R. (ed.). **Soil organic matter in sustainable agriculture**. Boca Raton: CRC, 2004. cap. 3, p. 68–102.
- WANG, G. *et al.* Opportunities for yield increases and environmental benefits through site-specific nutrient management in rice systems in Zhejiang province, China. **Agricultural Systems**, Barking, v. 94, p. 801–806, 2007.
- WANG, G. H. *et al.* Performance of site-specific nutrient management for irrigated rice in southeast China. **Agronomy Journal**, Madison, v. 93, p. 869–878, 2001.
- WANG, W. G. *et al.* Relationships of soil respiration to microbial biomass, substrate availability and clay content. **Soil Biology & Biochemistry**, Amsterdam, v. 35, p. 273–284, 2003.
- WARDLE, D. A. A comparative assessment of factors which influence microbial biomass carbon and nitrogen levels in soil. **Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society**, London, v. 67, p. 321–358, 1992.
- WEIL, R. R. *et al.* Estimating active carbon for soil quality assessment: a simplified method for laboratory and field use. **American Journal of Alternative Agriculture**, Washington, DC, v. 18, p. 3–17, 2003.
- WESTERMAN, R. L.; KURTZ, L. T. Priming effect of ¹⁵N-labeled fertilizers on soil nitrogen in the field experiment. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 37, p. 725–727, 1973.
- WHITE, D. C. *et al.* Determination of the sedimentary microbial biomass by extractable lipid phosphate. **Oecologia**, Berlin, v. 40, p. 51–62, 1979.
- WHITE, D. C.; RINGELBERG, D. B. Signature lipid biomarker analysis. **Techniques in Microbial Ecology**, Oxford, v. 1, p. 255–272, 1998.

WHITEHEAD, D. C. **Nutrient elements in grassland**. Wallingford: CABI, 2000. 369 p.

WILLIAMS, S. M.; WEIL, R. R. Crop cover root channels may alleviate soil compaction effects on soybean crop. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 68, p. 1403–1409, 2004.

WITT, C. et al. Crop rotation and residue management effects on carbon sequestration, nitrogen cycling and productivity of irrigated rice systems. **Plant and Soil**, The Hague, v. 225, p. 263–278, 2000.

WREGE, M. S. et al. **Atlas climático**: Rio Grande do Sul. Porto Alegre: CEMETRS, FEPAGRO, [2011]. Disponível em: <http://www.r3pb.com.br/AtlasCemetRS>. Acesso em: 27 jul. 2019.

XAVIER, F. E. et al. Controle de arroz-vermelho com utilização de rotação de culturas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE HERBICIDAS E PLANTAS DANINHAS, 19., 1993, Londrina. **Anais** [...]. Londrina: SBHED, 1993. p. 158–159.

XU, G.; FAN, X.; MILLER, A. J. Plant nitrogen assimilation and use efficiency. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 63, p. 153–182, 2012.

XU, Y. et al. Agronomic performance of late-season rice under different tillage, straw, and nitrogen management. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 115, p. 79–84, 2010.

XUE, L.; YU, Y.; YANG, L. Maintaining yields and reducing nitrogen loss in rice–wheat rotation system in Taihu Lake region with proper fertilizer management. **Environmental Research Letters**, Bristol, v. 9, n. 11, [art.] 115010, 2014.

YANG, Y. et al. Controlled release urea improved nitrogen use efficiency, activities of leaf enzymes, and rice yield. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 76, p. 2307–2317, 2012.

YOSHIDA, S. **Fundamentals of rice crop science**. Manila: International Rice Research Institute, 1981.

YU, Y.; XUE, L.; YANG, L. Winter legumes in rice crop rotations reduces nitrogen loss, and improves rice yield and soil nitrogen supply. **Agronomy for Sustainable Development**, Paris, v. 34, p. 633–640, 2014.

ZHANG, D. et al. Nitrogen application rates need to be reduced for half of the rice paddy fields in China. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, Amsterdam, v. 265, p. 8–14, 2018.

ZHAO, Z. et al. Carbon and nitrogen availability in paddy soil affects rice photosynthate allocation, microbial community composition, and priming: combining continuous ^{13}C labeling with PLFA analysis. **Plant and Soil**, The Hague, v. 445, p. 137–152, 2019.

ZHOU, W. *et al.* Soil physicochemical and biological properties of paddy-upland rotation: a review. **The Scientific World Journal**, London, v. 2014, [art.] ID 856352, 2014.

ZHU, B. *et al.* Performance of two winter cover crops and their impacts on soil properties and two subsequent rice crops in Dongting Lake Plain, Hunan, China. **Soil & Tillage Research**, Amsterdam, v. 124, p. 95-101, 2012.

ZHU, Z. *et al.* Fate of rice shoot and root residues, rhizodeposits, and microbial assimilated carbon in paddy soil - part 2: turnover and microbial utilization. **Plant and Soil**, The Hague, v. 416, p. 1–15, 2017.

ZHU, Z. *et al.* Microbial stoichiometric flexibility regulates rice straw mineralization and its priming effect in paddy soil. **Soil Biology & Biochemistry**, Amsterdam, v. 121, p. 67–76, 2018.

ZHU, Z. L.; CHEN, D. L. Nitrogen fertilizer use in China - Contributions to food production, impacts on the environment and best management strategies. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, Dordrecht, v. 63, p. 117–127, 2002.

ZHUANG, H. *et al.* Effect of long-term minimal and zero tillage on rice and wheat yields, soil organic matter and bulk density. **Scientia Agricultura Sinica**, Beijing, v. 32, p. 39–44, 1999.

ZOU, C. *et al.* Nitrogen, phosphorous and potassium uptake characteristics of rice and its relationship with grain yield. **Journal of Nanjing Agricultural University**, Nanjing, v. 25, n. 4, p. 6–10, 2002.