

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

**ESTABILIZAÇÃO DO CARBONO DAS RAÍZES E DA BIOMASSA AÉREA
DE PLANTAS DE COBERTURA DE SOLO EM PLANTIO DIRETO**

Jéssica Pereira de Souza
(Tese de Doutorado)

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

**ESTABILIZAÇÃO DO CARBONO DAS RAÍZES E DA BIOMASSA AÉREA
DE PLANTAS DE COBERTURA DE SOLO EM PLANTIO DIRETO**

Jéssica Pereira de Souza
Agrônoma (UniCatólica)

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

Porto Alegre (RS) Brasil
Agosto de 2022

CIP - Catalogação na Publicação

Souza, Jessica Pereira de
ESTABILIZAÇÃO DO CARBONO DAS RAIZES E DA BIOMASSA
AEREA DE PLANTAS DE COBERTURA DE SOLO EM PLANTIO
DIRETO / Jessica Pereira de Souza. -- 2022.
94 f.
Orientadora: Cimélio Bayer.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio
Grande do Sul, Faculdade de Agronomia, Programa de
Pós-Graduação em Ciência do Solo, Porto Alegre, BR-RS,
2022.

1. 13C. 2. Associação organo-mineral. 3. Qualidade
do resíduo. 4. Sistema radicular. 5. Rizodeposição .
I. Bayer, Cimélio, orient. II. Título.

JÉSSICA PEREIRA DE SOUZA
Engenheira Agrônoma - Unicatólica
Mestre em Ciências do Solo - UFPR

TESE

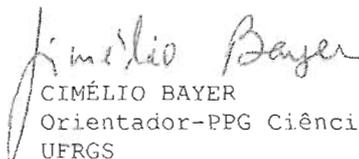
Submetida como parte dos requisitos
para obtenção do Grau de

DOUTORA 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: 08.08.2022
Pela Banca Examinadora

Homologado em: 23.03.2023
Por


CIMÉLIO BAYER
Orientador-PPG Ciência do Solo
UFRGS


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


JEFFERSON DIECKOW
Departamento de Solos e Engenharia Agrícola (UFPR)
(através de videoconferência)

MAURÍCIO ROBERTO CHERUBIN
Departamento de Ciência do Solo (ESALQ/USP)
(através de videoconferência)


SANDRO JOSÉ GIACOMINI
Departamento de Solos (UFSM)
(através de videoconferência)

Documento assinado digitalmente
gov.br CARLOS ALBERTO BISSANI
Data: 27/03/2023 14:54:02-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

CARLOS ALBERTO BISSANI
Diretor da
Faculdade de Agronomia/UFRGS

*Dedico aos meus pais, Ademir e
Neusa, minhas irmãs Silmaria,
Milene e Jeslane e aos meus
sobrinhos Débora, Vitória e Samuel
dedico.*

AGRADECIMENTOS

À Deus pela perfeita e complexa criação, pela vida plena, saúde e possibilidade em estudar um dos processos do sistema solo;

Aos meus pais, Ademir e Neusa, minhas irmãs Silmaria, Milene e Jeslane e aos meus sobrinhos Débora, Vitória e Samuel, pelo apoio, amor, confiança, por entender que a saudade foi o preço pago para a minha formação e realização profissional;

Ao Cimélio Bayer, pela oportunidade de participar do seu grupo de pesquisa, pela confiança e autonomia dada para o desenvolvimento do projeto de pesquisa e interpretação dos dados. Por oferecer estrutura adequada para o desenvolvimento da pesquisa, pelos valiosos ensinamentos, por compartilhar o seu conhecimento construído ao longo da sua jornada brilhante, por compartilhar suas experiências e me conduzir de modo que eu tenha uma boa formação. A minha gratidão!

Aos pesquisadores Leandro Bortolon e Elisandra Bortolon que desde da graduação me apoiam e me incentivam a fazer pesquisa, por mostrar que tudo vale apenas quando se faz o que gosta, por me apresentar a Ciência do Solo, pelo tempo e conhecimento compartilhado, por serem referências profissionais e pessoais;

À minha orientadora de mestrado Fabiane Vezzani, minha mentora e inspiração, me deu apoio e suporte para que eu conseguisse superar os primeiros desafios da escrita científica. Sou grata pelo cuidado e carinho que teve comigo durante esse período do Doutorado. Agradeço todos os conselhos, motivação, amizade, paciência, por me acalmar e incentivar para que eu alcançasse o meu melhor. Obrigada por cumprir a promessa: “uma vez orientadora, orientadora para sempre”;

À Deborah Dick pela parceria em todas as etapas da pesquisa, pelo tempo dedicado e a pronta disponibilidade para esclarecer as minhas diversas e variadas dúvidas, pelo auxílio e apoio na realização do fracionamento físico da MOS;

Ao prof. Sandro Giacomini por todo o apoio e suporte no planejamento e execução do projeto de pesquisa, por compartilhar seu conhecimento e

experiências quanto ao uso da técnica de cultivo de plantas em atmosfera enriquecida com pulsos de ^{13}C ;

À minha amiga Jéssica Cavalcante, pela parceria, apoio, amizade ao longo de todos esses anos e, inclusive os anos mais desafiadores, da pós-graduação. Obrigada pelo companheirismo e por ser suporte em todos aspectos, obrigada por deixar a caminhada mais leve. Minha gratidão!

Ao José (tio Zé) por todo apoio prestado durante a execução desse projeto de pesquisa, por facilitar muito a condução do experimento. Ao tio Zé, a minha gratidão!

Aos bolsistas de iniciação científica do SOMALCA, Lucas Abatti, Alexssander, Gean, Isadora Behlingm, Caroline Matheus, Augusto, Gabriel Rocha e Gabriel Pinheiro pelo auxílio essencial na execução desse projeto de pesquisa;

Aos colegas da pós-graduação, Jéssica Cavalcante, Murilo Veloso, Anaí, Lucas Telles, Guilherme, Caroline, Cristhian, Eduardo, Osmar, Magno, Itauane, Antony, Ana Clécia, Johny, Jonathas, Cinthya, Edmilson, Lucas Moraes e Ana Paula, pela amizade, pelos momentos de interação na hora do café que conduzia sempre a reflexões valorosas e/ou diversão e, pelo auxílio em variadas etapas desse projeto de pesquisa;

À Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Agronomia, ao Departamento de Solos e ao Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo pela estrutura que possibilitou o desenvolvimento deste trabalho e da minha formação;

Aos funcionários da Estação Experimental Agrônômica-UFRS e ao Prof. Christian Bredemeier pela condução do experimento de longa duração em plantio direto do departamento de Plantas de Lavoura;

Aos professores da UFRGS por contribuir para a minha formação Técnica-Científica, em especial ao Cimélio, Deborah, Amanda, Cláudia, Getúlio, Tales, Carlos Alberto, assim como, aos técnicos de laboratório, Heron e Adão pelo auxílio na condução das análises laboratoriais;

Aos professores do Departamento de Solos da Universidade do Paraná, Fabiane, Glaciela, Jefferson, Marcelo, Nerilde, Vander, Eloana, por contribuir para a minha formação Técnica-Científica;

À Universidade Federal de Santa Maria, em nome do Prof. Sandro e do técnico Douglas pela realização das análises de ^{13}C e teores totais de C e N;

Ao CNPq, Fapergs e à Fundação Agrisus pelo apoio financeiro para condução de projeto de pesquisa.

ESTABILIZAÇÃO DO CARBONO DAS RAÍZES E DA BIOMASSA AÉREA DE PLANTAS DE COBERTURA NO SOLO EM PLANTIO DIRETO¹

Autor: Agr. MsC Jéssica Pereira de Souza

Orientador: Prof. Dr. Cimélio Bayer

RESUMO

A estabilização do C no solo é crucial para a sustentabilidade da agricultura tropical e subtropical. O objetivo desta tese foi avaliar a eficiência e identificar os mecanismos de estabilização do C das raízes e da parte aérea de plantas de cobertura no solo. Colunas de solo foram amostradas com tubos de PVC (n=48, h=30 cm e Ø 20 cm) de uma área sob plantio direto há 20 anos. Metade das colunas (n=24) foi mantida sob atmosfera natural (¹²C) e a outra foi enriquecida com ¹³C através da aplicação de pulsos semanais de ¹³CO₂. Então, plantas de cobertura de inverno – aveia e ervilhaca – foram cultivadas. As seis primeiras colunas foram utilizadas como referência, a partir das mensurações de biomassa aérea e radicular, teor de C, N, razão isotópica de C (¹³C/¹²C) e composição bioquímica. As demais foram colhidas e usadas no experimento com combinação pareada de raiz e biomassa aérea enriquecidas (¹³C) e não enriquecidas (¹²C). Aos 10 e 21 meses de incubação, as colunas de solo foram estratificadas em 4 camadas, e submetidas às análises do fracionamento da matéria orgânica (MO) (0-5 e 5-10 cm), e da distribuição dos agregados estáveis em água. Aos 10 meses também foi realizado o isolamento dos microagregados do interior dos macroagregados (0-5 e 5-10 e 10-30 cm). Todas as amostras de solo, classes de agregados e frações da matéria orgânica (MO) do solo foram analisadas quanto aos teores de C e razão isotópica (¹³C/¹²C). Aos 10 meses de incubação, a biomassa aérea da ervilhaca apresentou eficiência de estabilização do C no solo 35% maior do que a biomassa aérea da aveia, e representou a maior proporção de C estabilizado na MO associada aos minerais. Entretanto, no mesmo período, o C oriundo das raízes da aveia apresentou eficiência de estabilização no solo 38% maior do que as raízes da ervilhaca, fazendo com que na média, aveia e ervilhaca tenham tido eficiências de estabilização de C no solo similares. Aos 21 meses de incubação, as eficiências de estabilização de C no solo provenientes das diferentes biomassas aéreas não diferiram entre si; porém as raízes da aveia tiveram eficiência de estabilização 2 vezes maior do que as raízes da ervilhaca, o que resultou em maior estabilização de C no solo devido à aveia naquele período. O fracionamento da MO demonstrou que o mecanismo chave de estabilização do C a partir dos diferentes resíduos vegetais foi a associação organo-mineral, que possivelmente favoreceu a formação de microagregados em macroagregados do solo, durante o processo de decomposição dos diferentes resíduos vegetais. Assim, estabilização do C oriundo das raízes da aveia e da biomassa aérea da ervilhaca, bem como a atuação de curta duração dos mecanismos envolvidos, reforçam a adequação da adoção de sistemas de rotação de culturas quando se visa a melhoria da qualidade do solo e o sequestro de C em solos subtropicais em plantio direto.

Palavras-chave: ¹³C, qualidade do resíduo, sistema radicular, microagregados, associação organo-mineral, isotopes.

¹Tese 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. (93p.) Agosto, 2022.

STABILIZATION OF CARBON FROM ROOTS AND AERIAL BIOMASS OF WINTER COVER CROPS GROWN IN A SUBTROPICAL NO-TILL SOIL²

Author: Agr. MsC Jéssica Pereira de Souza

Adviser: Prof. Dr. Cimélio Bayer

ABSTRACT

Soil C stability is crucial for sustainable agriculture in tropical and subtropical ecosystems. The objective of this thesis was to evaluate the efficiency and identify the stabilization mechanisms in soil of C from root and shoot biomass of cover crops. Soil columns were sampled with PVC tubes (n=48, h=30 cm and Ø 20 cm) from an area under no-tillage for 20 years. Half of the columns (n=24) were kept under natural atmosphere (¹²C) and the other part was enriched with ¹³C through the application of weekly pulses of ¹³CO₂. Then, winter cover crops – oats and vetch– were grown. The first six columns were used as a reference, based on individual measurements of root and shoot biomass, C and N content, C isotopic ratio (¹³C/¹²C) and biochemical composition. The others were harvested and used in the experiment with a paired combination of enriched (¹³C) and non-enriched (¹²C) root and shoot biomass. At 10 and 21 months of incubation, the soil columns were stratified in layers 0-5, 5-10, 10-20 and 20-30 cm, and subjected to organic matter (OM) fractionation analyzes (0-5 and 5-10 cm), and the distribution of stable aggregates in water. At 10 months, the microaggregates were also isolated from the interior of the macroaggregates (0-5 and 5-10 and 10-30 cm). All soil samples, aggregate classes and soil organic matter (OM) fractions were analyzed for C content and isotopic ratio (¹³C/¹²C). After 10 months of incubation, vetch shoot biomass showed 35% greater soil C stabilization efficiency than oat shoot biomass, and represented the highest proportion of soil C stabilized in the OM associated with minerals. However, in the same period, C from oat roots showed a soil C stabilization efficiency 38% greater than that from vetch roots, meaning that, on average, oats and vetches had similar soil C stabilization efficiencies. At 21 months of incubation, the soil C stabilization efficiencies from the different shoot biomass did not differ among themselves; however, oat roots had a stabilization efficiency two times greater than vetch roots, which resulted in greater soil C stabilization due to oat in that period. The OM fractionation evidenced that the key mechanism of C stabilization was the organo-mineral association, which possibly favored the formation of microaggregates in soil macroaggregates, during the decomposition process of different plant residues. Thus, the significance of C stabilization from oat roots and shoot biomass of vetch, and the short-term action of the mechanisms involved, reinforce the need of rotation of crops that bring a constant supply of C when the aim is to improve soil quality and C sequester in subtropical soils under no-tillage systems.

Keywords: ¹³C, residue quality, roots, soil microaggregates, organo–mineral association, isotopes.

²Doctorate thesis in Soil Science. Graduate Program in Soil Science, Faculty of Agronomy, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre. (93 pp) August 2022.

SUMÁRIO

CAPÍTULO I – INTRODUÇÃO GERAL	14
CAPÍTULO II – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
1. Carbono estabilizado na matéria orgânica do solo sob sistema plantio direto.....	16
2. Estimativa do aporte de C pela biomassa aérea e raízes das culturas	20
3. Mecanismos de estabilização do C no solo e técnicas de fracionamento físico	26
4. Qualidade dos resíduos vegetais, formação e estabilização da MO do solo	27
5. Estabilização do C das raízes de plantas de cobertura	32
CAPÍTULO III – ESTABILIZAÇÃO DO C DERIVADO DE RAÍZES E BIOMASSA AÉREA DE PLANTAS DE COBERTURA INVERNAIS EM SOLO SUBTROPICAL SOB PLANTIO DIRETO	34
1. Introdução	34
2. Material e Métodos	37
2.1 Caracterização do solo.....	37
2.2 Coleta das colunas de solo e cultivo das plantas	38
2.3 Enriquecimento das plantas com ^{13}C -CO ₂	39
2.4 Quantificação da biomassa aérea e das raízes e sua caracterização.....	42
2.5 Experimento com biomassa aérea e raízes enriquecidas e não enriquecidas pareadas para rastreamento do ^{13}C	43
2.6 Incubação, preparo das amostras e fracionamento da MO do solo.....	44
2.7 Determinação dos teores de carbono e da razão isotópica $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$	47
2.8 Cálculos – Carbono acumulado no solo e eficiência de estabilização no solo do C derivado da biomassa aérea e das raízes.....	47
3. Resultados.....	49
3.1 Assinatura isotópica, recuperação e distribuição do C entre biomassa aérea, raízes e rizodeposição.....	49

3.2	Características bioquímicas da biomassa aérea e raízes das plantas de cobertura	51
3.3	C e N das plantas de cobertura remanescente na superfície do solo.....	52
3.4	Acúmulo no solo do C derivado da biomassa aérea e das raízes	53
3.5	Eficiência de estabilização no solo do C derivado da biomassa aérea e das raízes.....	56
3.6	Acúmulo de C derivado das plantas de cobertura nas frações da MO do solo	57
4.0	Discussão	60
4.1	Enriquecimento das plantas e recuperação do ^{13}C no solo e planta ...	60
4.2	Eficiência de estabilização do C derivado da biomassa aérea e das raízes de plantas de cobertura do solo	60
4.3	Mecanismos de estabilização do C derivado da biomassa aérea e de raízes da aveia e ervilhaca influenciados pelo tempo de incubação	64
5.0	Conclusões	66
	CAPÍTULO IV – ESTABILIZAÇÃO DO C DERIVADO DE RAÍZES E BIOMASSA AÉREA EM MICROAGREGADOS DENTRO DE MACROAGREGADOS DE UM SOLO SUBTROPICAL EM PLANTIO DIRETO	68
1.	Introdução	68
2.	Material e Métodos.....	70
2.1	Classes de agregados de solo e isolamento de microagregados dentro de macroagregados.....	70
2.2	Determinação dos teores de carbono e da razão isotópica $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$	71
2.3	Cálculos – Carbono acumulado nas classes de tamanho de agregado e proporção de C derivado da biomassa aérea e das raízes	72
2.4	Análise estatística.....	73
3.	Resultado	74
3.1	Distribuição de agregados estáveis em classes de tamanho e acúmulo de C derivado da biomassa aérea e das raízes da aveia e ervilhaca.....	74
3.2	Proporção de C derivado da biomassa aérea e raízes da aveia e ervilhaca acumulado nas classes de tamanho de agregados do solo.....	76
4.	Discussão.....	78
5.	Conclusão	80
	CAPÍTULO V – CONCLUSÕES GERAIS	82
	REFERÊNCIAS	84
	RESUMO BIOGRÁFICO.....	98

RELAÇÃO DE FIGURAS

Figura 1. Representação esquemática da coleta das colunas do solo, cultivo das plantas em casa de vegetação e instalação do experimento pareado.....	46
Figura 2. a) $\delta^{13}\text{C}$ das folhas, Colmo, panícula da aveia e folhas e haste da ervilhaca enriquecidas em sistema de pulsos de $^{13}\text{CO}_2$. b) $\delta^{13}\text{C}$ das raízes....	49
Figura 3. a) C derivado da aveia e ervilhaca via biomassa aérea e sistema radicular. b) C da rizodeposição remanescente adicionado em cada camada de solo via aveia e ervilhaca até o período da colheita. As letras maiúsculas comparam plantas e letras minúsculas comparam as camadas de solo dentro de cada fonte de C (C-Rizodeposição e C-Massa de raiz).....	51
Figura 4. Carbono e nitrogênio remanescente no resíduo da biomassa aérea vegetal presente na superfície do solo aos 0, 10 e 21 meses de incubação à campo.	53
Figura 5. Eficiência de estabilização do C derivado da biomassa aérea e das raízes (0-30 cm) aos 10 e 21 meses de incubação a campo.....	57
Figura 6. C derivado da biomassa aérea e das raízes da aveia e ervilhaca acumulado em frações físicas da MO do solo na camada de 0-10 cm, aos 10 (A) e 21(B) meses da adição dos resíduos vegetais. As letras maiúsculas comparam a planta (aveia e ervilhaca) e letras minúsculas comparam a fonte de C (biomassa aérea e raiz).	59
Figura 7. Distribuição do tamanho das classes de agregados nas camadas 0-5, 5-10 e 10-30 cm de um Argissolos sob plantio direto, após 10 meses da adição dos resíduos vegetais da aveia e ervilhaca.O média da aveia e ervilhaca.....	75
Figura 8. Carbono derivado da biomassa aérea e das raízes da aveia e ervilhaca nos macroagregados grandes (MG), macroagregados (M), microagregados (Micro) e na classe silte e argila (S+A) nas camadas de 0-5, 5-10 e 10-30 cm de um Argissolo sob plantio direto.....	76
Figura 9. a) Proporção de C derivado da biomassa aérea e das raízes da aveia e ervilhaca nos macroagregados grandes (MG), macroagregados (M), microagregados livres (Micro) e classe silte e argila. b) Proporção de C derivado da biomassa aérea e das raízes da aveia e ervilhaca nos microagregados dentro dos MG e M de um Argissolo Vermelho.	78

RELAÇÃO DE TABELAS

Tabela 1. Adição de carbono anual e do estoque de carbono em sistemas com plantas de coberturas e/ou consócio de várias regiões do Brasil.	19
Tabela 2. Contribuição do C adicionado via biomassa aérea e raízes em diferentes culturas na MO do solo	24
Tabela 3. Dados de aporte de C via biomassa aérea, de raízes e rizodeposição remanescente de diferentes culturas, países e métodos.....	25
Tabela 4. Atributos mineralógicos, densidade o solo, teor de C e abundância natural do ¹³ C do solo da Estação Experimental Agronômica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.	38
Tabela 5. Recuperação de ¹³ C e distribuição do C fotossintetizado pela aveia e ervilhaca sob enriquecimento com pulsos de ¹³ CO ₂	50
Tabela 6. Composição bioquímica da biomassa aérea e das raízes da aveia e ervilhaca após cultivo em casa de vegetação.....	52
Tabela 7. C derivado da biomassa aérea e das raízes da aveia e ervilhaca após 10 e 21 meses de incubação á campo.	55
Tabela 8. Carbono quantificado na superfície do solo antes e aos 10 meses de incubação, derivado da biomassa aérea e raízes da aveia e ervilhaca, plantas de cobertura invernais do solo sob plantio direto.....	73

RELAÇÃO DE ABREVIATURAS

- ATP – Trifosfato de adenosina
- CO₂ – Dióxido de Carbono
- COD – Carbono Orgânico Dissolvido
- COS – Carbono Orgânico do Solo
- EUC – Eficiência do Uso do Carbono
- M – Macroagregados pequenos
- MG – Macroagregados grandes
- Micro – Microagregados
- MO – Matéria Orgânica
- MOP – Matéria Orgânica Particulada
- SPD – Sistema Plantio Direto
- S+A – Classe silte e argila livre

CAPÍTULO I – INTRODUÇÃO GERAL

A matéria orgânica (MO) do solo é reconhecida amplamente como sendo um dos principais indicadores de qualidade do solo e do ambiente, pois conduz os ecossistemas a patamares de elevada capacidade produtiva e contribui para a mitigação das mudanças climáticas através do sequestro de C no solo. Visando a sustentabilidade dos ecossistemas agrícolas, o nosso desafio é entender os mecanismos da estabilização do C derivado das plantas na MO do solo e a sua magnitude, sobretudo nos ecossistemas subtropicais. Pois, a partir desse entendimento é possível manejar os sistemas de forma a otimizar os recursos disponíveis, além de gerar informações que poderão dar subsídios a políticas públicas e a modelagem do acúmulo de MO no solo.

A diferente composição bioquímica dos resíduos vegetais e da arquitetura do sistema radicular podem influenciar os processos físicos, químicos e biológicos do solo que determinam a estabilização e sequestro de C no solo. Contudo, pouco se sabe nos solos e sistemas de produção subtropicais brasileiros sobre a estabilização do C aportado pelo sistema radicular de gramíneas e leguminosas, que se reflete na taxa de conversão e no tempo de residência no solo (KONG; SIX, 2010; RASSE; RUMPEL; DIGNAC, 2005). Se por um lado, o acúmulo de C via associação organo-mineral e oclusão da MO em agregados podem ser favorecidos pelas gramíneas, devido à alta rizodeposição e a arquitetura do sistema radicular (raízes fasciculadas), respectivamente. Por outro lado, o maior teor de N no tecido vegetal e na rizodeposição das leguminosas podem aumentar a estabilização do C aportado na MO associada aos minerais (COTRUFO *et al.*, 2013, 2015; KALLENBACH *et al.*, 2015a).

Com a finalidade de contribuir no avanço nessa fronteira do conhecimento da Ciência do Solo, essa pesquisa foi conduzida com o objetivo de investigar o destino do C derivado da biomassa aérea e das raízes da ervilhaca e da aveia,

e os mecanismos envolvidos na estabilização do C num Argissolo subtropical em plantio direto de longo prazo. O primeiro estudo teve a finalidade de responder as seguintes perguntas: Qual é a

eficiência da estabilização do C derivado das raízes e da biomassa aérea de plantas de cobertura? Qual o efeito da qualidade do resíduo vegetal sobre a eficiência da estabilização do C no solo? Com base no fracionamento físico da MO, quais os principais mecanismos atuantes na estabilização do C derivado das raízes e biomassa aérea das plantas? No segundo estudo as perguntas foram: A qualidade do resíduo e as raízes influenciam a estabilidade do C em microagregados de solo? O acúmulo de C em microagregados no interior de macroagregados de solo conduz à maior eficiência de estabilização do C derivados das plantas no solo?

CAPÍTULO II – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1. Carbono estabilizado na matéria orgânica do solo sob sistema plantio direto

O Sistema Plantio Direto (SPD) tem como pressuposto o mínimo revolvimento do solo, a alta adição de resíduos vegetais, a cobertura permanente do solo e a diversificação de culturas (HOBBS; SAYRE; GUPTA, 2008). Essas técnicas, juntamente com o aparato tecnológico, foram suficientes para aumentar a produtividade dos sistemas agrícolas nas últimas décadas, pois diminuíram os riscos de quebra de safra e perdas de solo por erosão, bem como contribuíram para um aumento da qualidade dos solos e da sua capacidade produtiva (BOLLIGER *et al.*, 2006; KASSAM; FRIEDRICH; DERPSCH, 2018).

O não revolvimento do solo contribui para a manutenção e melhoria da estrutura do solo e, conseqüente proteção física da MO (BARBOSA *et al.*, 2016; KIANI *et al.*, 2017; SIX *et al.*, 1998; VEZZANI; MIELNICZUK, 2011a). A MO particulada (MOP), constituída por resíduos vegetais e animais adicionados ao solo em fase inicial de decomposição (OADES, 1984), e os compostos orgânicos liberados como subproduto do processo de degradação dos resíduos vegetais e rizodeposição das raízes, atuam como agentes de ligação das partículas minerais, formando agregados de solo estáveis (TISDALL; OADES, 1982b). Os agregados de solo são, tradicionalmente, classificados em microagregados (<0,250 mm) e macroagregados (>0,250 mm) (KENNEDY, 1999; SIX *et al.*, 1998). Em solos altamente intemperizados, além dos compostos orgânicos, os óxidos de ferro e alumínio atuam na estabilização dos microagregados por processos físico-químicos (SIX *et al.*, 2004). As cargas predominantes dos óxidos de Fe e Al em condições de pH dos solos agrícolas são positivas, enquanto os grupos funcionais da caulinita são predominantemente negativos e,

pela atração eletrostáticas essas partículas flocculam, podendo formar os microagregados (TISDALL; OADES, 1982b). A estabilidade dessas estruturas ocorre através de repetidos ciclos de umedecimento e de secagem do solo. Por isso, em solos tropicais, o revolvimento pouco afeta a distribuição

dos microagregados livres (OADES; WATERS, 1991). Contudo, o revolvimento do solo pode influenciar a estabilidade dos macroagregados, que são estruturas mais complexas e diversas, construídas pelo envelhecimento dos microagregados, partículas livres de solo e resíduos vegetais pelas raízes e hifas de fungos e que, portanto, tem sua estabilidade altamente influenciada pela atividade microbiana (ANDRUSCHKEWITSCH; KOCH; LUDWIG, 2014; DAVINIC *et al.*, 2012; LUPWAYI *et al.*, 2001; TISDALL; OADES, 1982; VEZZANI; MIELNICZUK, 2011).

Por mais que, a formação de microagregados seja menos dependente do manejo em solos altamente intemperizados (DENEFF; SIX, 2006), o SPD pode ampliar o C armazenado no solo através da proteção física da MO em macroagregados (ANDRUSCHKEWITSCH; KOCH; LUDWIG, 2014; SIX *et al.*, 2002; VELOSO; CECAGNO; BAYER, 2019). Além disso, nessas condições o “turnover” dos macroagregados será menor, o que contribui para a formação de um ambiente favorável para que a MOP grosseira seja fragmentada (ou mineralizada) em MOP fina dentro dos macroagregados e seja protegida fisicamente em microagregados, ou quimicamente estabilizada por associação com a fração mineral do solo, assim como os subprodutos e a microbiota envolvida no processo (CONCEIÇÃO; DIECKOW; BAYER, 2013; DENEFF; SIX, 2006; OADES, 1984; PLANTE; MCGILL, 2002; SIX *et al.*, 1998; VELOSO *et al.*, 2018).

O revolvimento do solo torna acessível o C da MOP protegida no interior dos agregados de solo à ação dos microrganismos e suas enzimas (BAYER *et al.*, 2000). Por isso, em solos tropicais e subtropicais, a taxa de decomposição da MO é expressivamente inferior em solos em plantio direto do que sob preparo convencional (Bayer *et al.*, 2000b), o que favorece o armazenamento de C nos solos em SPD e, conseqüentemente, a mitigação da emissão de CO₂ do solo para atmosfera (VELOSO *et al.*, 2018). Devido à essa baixa taxa de perda de C, a quantidade de resíduos vegetais necessários para manter o estoque de C no

solo é inferior em solos em SPD do que em PC (BAYER *et al.*, 2006; LOVATO *et al.*, 2004a).

Além do não revolvimento do solo, a adição de resíduos tem forte relação com o estoque de C do solo (BAYER *et al.*, 2000; SILVA *et al.*, 2004; SÁ *et al.*, 2013; VELOSO *et al.*, 2018). Além da quantidade, a planta pode direcionar a decomposição e a formação da MO do solo, visto que a quantidade de N e a composição bioquímica do tecido vegetal é bastante variável entre diferentes espécies (PAUL, 2016). Por isso, o sucesso do SPD quanto ao acúmulo de C no solo depende da escolha das culturas que irão compor o sistema de rotação e não somente do aporte de resíduos vegetais, o que dá suporte à importância da diversificação de culturas.

A diversificação dos sistemas agrícolas tem sido feita pela inserção de consórcios e plantas de cobertura cultivadas em rotação com espécies comerciais (soja, milho, trigo). Essa estratégia tem sido utilizada para aumentar o aporte de resíduos vegetais e ampliar a cobertura de solo, tanto nas regiões tropicais (Norte, Centro-Oeste e Sudeste) quanto subtropical (Sul) do Brasil, variando apenas as espécies adotadas nas diferentes regiões (Tabela 1). Pesquisas feitas ao longo de 30 anos em solo demonstram que a adubação mineral de nitrogênio e a inserção de plantas de cobertura leguminosas pode aumentar o aporte de resíduos vegetais em $2 \text{ Mg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$, aproximadamente (VELOSO *et al.*, 2018; ZANATTA *et al.*, 2007). Ao associar fertilizantes nitrogenados e consórcio de gramíneas e leguminosas, tanto no inverno quanto no verão, a adição de C via resíduos vegetais pode chegar a mais de $7,3 \text{ Mg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$, ou seja, de aproximadamente $20 \text{ Mg MS ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$ (VELOSO *et al.*, 2018; ZANATTA *et al.*, 2007).

Tabela 1. Adição de carbono anual e do estoque de carbono em sistemas com plantas de coberturas e/ou consócio de várias regiões do Brasil.

Cidade-Estado	Tempo de condução	Classe de Solo	Sistemas de culturas	Adição de Carbono	Estoque de carbono	Referências
				Mg C ha ⁻¹ ano ⁻¹	Mg ha ⁻¹	
Eldorado do Sul - RS	30 anos	Argissolo Vermelho	Aveia/Milho	6,6	36,4	VELOSO et al., 2018
			Ervilhaca/Milho	6,9	42,0	
			Aveia+Ervilhaca/Milho+Caupi	7,3	46,4	
Cruz Alta - RS	19 anos	Latossolo	Trigo/soja	4,03	51,8	AMADO et al., 2006
			Aveia-Soja-aveia + Ervilhaca-milho-rabanete-trigo-soja	5,87	58,3	
Campos Novos - SC	7 anos	Latossolo	Triticale-centeio-soja-ervilhaca-milho-aveia-feijão- trigo-rabanete	3,43	53,4	
Ponta Grossa - PR	16 anos	Latossolo Vermelho	Trigo/soja	4,12	32,3	SÁ et al., 2014
Planaltina - DF	11 anos	Latossolo Vermelho	Soja + Milheto	6,78	39,6	NUNES; SOUSA; MENDES, 2011
			Soja + Mucuna	5,04	38,0	
Montividiu - GO	3 anos	Latossolo Vermelho	Soja + Pousio	3,81	29,7	GUARESCHI; PEREIRA; PERIN, 2012
	15 anos		Soja + Milho/Sorgo	4,08	56,3	
	20 anos		Soja + Milho	4,50	57,4	
Gurupi - TO	3 anos	Latossolo Amarelo	Soja x <i>P. maximum</i> cv. Massai	6,33	nc	ANDRADE et al., 2017
			Soja x <i>P. maximum</i> cv. Mombaça	8,56	nc	
			Soja x <i>U. brizantha</i>	6,38	nc	
			Soja x <i>U. ruziziensis</i>	6,62	nc	
			Soja x <i>P. americanum</i>	4,24	nc	

*Os estoques de carbono apresentado referem-se a camada de solo de 0-20 cm. PD: plantio direto; nc – não consta

2. Estimativa do aporte de C pela biomassa aérea e raízes das culturas

A estimativa do aporte de C via planta pode dar subsídio para a escolha de culturas para compor o sistema de rotação, devido a relação do aporte de C pela biomassa vegetal com as taxas de acúmulo de C em solos em SPD. Além disso, as informações do aporte de C podem contribuir para melhorar a eficiência dos modelos de simulação da dinâmica do C no solo e da capacidade de armazenamento no solo conforme o uso e o manejo adotado.

O aporte de resíduos vegetais da biomassa aérea das culturas pode ser quantificado através da amostragem de uma determinada área no período do florescimento das culturas, no qual é assumido o maior acúmulo de biomassa vegetal. No caso de cereais, pode ser feita via equações matemáticas que permitem calcular a biomassa aérea a partir do rendimento de grãos da cultura (BOLINDER *et al.*, 2007; LOVATO *et al.*, 2004b). Essa metodologia a princípio é um pouco mais precisa do que calcular o aporte de C a partir do rendimento de grãos e de um respectivo índice de colheita aparente, devido ao fato de que o índice de colheita varia em função da faixa de rendimento da cultura. Entretanto, a estimativa do aporte de biomassa vegetal utilizando índice de colheita é amplamente aceita. Finalmente, assume-se uma proporção de 30% de raízes em relação à biomassa aérea (BAYER *et al.* 2000a), ou valores específicos para cada cultura (BOLINDER *et al.*, 2007).

Contudo, a grande dificuldade na estimativa do C aportado pelas culturas está em quantificar o aporte de C pelo sistema radicular das culturas, pois o *turnover* das raízes e a rizodeposição são de difícil determinação e contribuem expressivamente no aporte de C (BUYANOVSKY; WAGNER, 1987). Os primeiros estudos conduzidos a campo que visaram quantificar o aporte de C via raízes foram realizados com atmosfera controlada e enriquecimento das plantas com $^{14}\text{CO}_2$ (BUYANOVSKY; WAGNER, 1987; WAREMBOURG; PAUL, 1977). Porém, o isótopo ^{14}C é radioativo e requerer o uso de cintilador para a detecção do isótopo, o que torna o seu uso bastante restrito e isso pode inviabilizar o emprego mais amplo desta técnica. Posteriormente, foram realizados

estudos com abundância natural de ^{13}C que permite quantificar as contribuições relativas da fonte de C, bem como a rotatividade da MO do solo e de suas frações, quando há uma grande diferença de ^{13}C entre as fontes de C (C da planta vs. C do solo) (BALESDENT; BALABANE, 1992, 1996; BOLINDER *et al.*, 1999; BOLINDER; ANGERS; DUBUC, 1997; RASSE; RUMPEL; DIGNAC, 2005). Este método é possível, pois as plantas têm diferentes estratégias fotossintética quanto ao uso de $^{13}\text{CO}_2$ versus $^{12}\text{CO}_2$ (C3 ou C4). O que resulta em diferentes assinaturas isotópicas das plantas C3 e C4, média, -27 e -12 ‰, respectivamente (SMITH E EPSTEIN, 1971).

Mudanças na vegetação de C3 para C4 ou vice-versa, alteram a assinatura de ^{13}C das entradas de C do solo e, assim, permitem uma estimativa do C recém adicionado versus o C do solo (BALESDENT; BALABANE, 1992, 1996). Dados apresentado por BALESDENT AND BALABANE (1996) evidencia pequenas alterações do delta ^{13}C (3 ‰) nas frações maiores da MO do solo (2-0,250 μm) no primeiro ano de cultivo e o enriquecimento de ^{13}C mais expressivo em todas as frações da MO do solo ocorre por volta dos 12 anos de cultivo. O tempo para o enriquecimento das frações da MO do solo depende do *turnover* dessas frações que varia conforme o tipo de solo, as características climáticas e a espécie de plantas que deu origem a MO do solo. Estudo mais recentes quantificaram a contribuição das raízes e da rizodeposição das plantas a partir de duas ou três safras (BERHONGARAY *et al.*, 2019). Portanto, o método de abundância natural de ^{13}C apresenta limitações quanto ao histórico de uso do solo, como já mencionado anteriormente e do tempo de cultivo, de pelo menos duas safras da cultura foco do estudo, para que seja quantificado mudanças expressivas no delta ^{13}C do solo.

O método de abundancia natural do ^{13}C foi utilizado em experimentos conduzidos no Canadá e USA e a partir dos resultados gerado foi definido uma equação matemática para quantificar o aporte de C via raízes (raiz+rizodeposição) e biomassa aérea das culturas por meio do rendimento dos grãos e valores fixos de relação entre biomassa aérea e raiz (BOLINDER *et al.*, 2007). Porém, os valores da relação entre a biomassa aérea e raízes tem grande variação (BOLINDER *et al.*, 2007), o que dificulta a extrapolação

dos valores para outros estudos. Sendo assim, é desejável a realização de experimentos regionais para gerar médias confiáveis da relação biomassa aérea e raiz das diversas culturas.

A quantificação do C aportado pelas raízes apresentam normalmente uma alta variação (BOLINDER *et al.*, 2007). Isso porque, existe uma variabilidade do padrão de crescimento das raízes em cada tipo de solo, manejo e a quantificação da massa de raízes requer coleta de monólitos de solo e lavagem com água para separar as raízes do solo (BÖHM, 1979; BOLINDER; ANGERS; DUBUC, 1997). E, durante o procedimento de lavagem de raízes ocorrem muitas perdas e o resultado depende do tamanho de malha das peneiras escolhidas, da posição de coleta na paisagem e do procedimento de separação das raízes do solo (BOLINDER *et al.*, 2007).

Mas, talvez, a grande dificuldade está em contabilizar a quantidade de C via rizodeposição que são compostos orgânicos exsudatos, mucilagem e células das bordas que são desprendidas durante o crescimento radicular (JONES *et al.*, 2005), além das raízes finas que morrem durante o desenvolvimento da cultura e sofrem decomposição. A determinação do C da rizodeposição em solos é praticamente obrigatório o uso de isótopos, seja de abundância natural, como mencionado anteriormente, ou por enriquecimento (JONES; NGUYEN; FINLAY, 2009; PAUSCH; KUZYAKOV, 2018). Visto as limitações do uso da abundância natural do ^{13}C , pode ser utilizado o enriquecimento das plantas a partir de uma atmosfera enriquecida com $^{13}\text{CO}_2$. Em comparação com o enriquecimento a partir de uma atmosfera enriquecida contínua com $^{13}\text{CO}_2$, o enriquecimento com múltiplos pulsos de $^{13}\text{CO}_2$ durante o crescimento das plantas é uma alternativa de menor custo e que tem se mostrado adequada para avaliar o C da rizodeposição remanescente no solo após a colheita (HIRTE *et al.*, 2018a; KUZYAKOV; DOMANSKI, 2000) e, assim, melhorar a estimativa do aporte de C via planta. Porém, salienta-se que esse método não quantifica o C total aportado por rizodeposição, mas sim apenas o C da rizodeposição que é remanescente. Os estudos com enriquecimento em pulso com $^{13}\text{C}\text{-CO}_2$ a campo em vários países, sob diferentes sistemas de manejo e de culturas, têm sido conduzidos com objetivo de quantificar o C aportado pelas raízes e

acessar a estabilização desse C no solo (Tabela 2). Essa técnica tem se mostrado eficiente para quantificar o aporte de C via planta e a sua contribuição na MO do solo (HIRTE *et al.*, 2018a; KONG; SIX, 2010; SUBEDI; MA; LIANG, 2006).

De modo geral, a literatura relata que o C aportado pelas raízes tem maior contribuição para a MO do solo do que a biomassa aérea (Tabela 2). Em média, 32 e 9 % do C adicionado ao solo pelas raízes e biomassa aérea é acumulado na MO do solo, respectivamente, embora os resultados sejam bastantes variáveis (Tabela 2). Em um estudo foi identificado que após 17 meses de decomposição o acúmulo de C via raízes e biomassa aérea do centeio foi semelhante (AUSTIN *et al.*, 2017). Os resultados desses estudos realizados com uso de isótopos demonstram que o C da rizodeposição remanescente varia entre 15 e 140 g C m⁻², o que representa 22 a 64 % do C adicionado ao solo pelo sistema radicular das plantas (Tabela 3). E que a relação biomassa aérea e raiz de culturas anuais oscilou entre 0,5 e 6,4, sendo que os maiores valores foram observados em estudos que não quantificaram o C da rizodeposição (Tabela 3). Por exemplo, a relação biomassa aérea e raiz da ervilhaca em experimentos conduzidos nos Estados Unidos foi 60 % maior no estudo que não quantificou o C da rizodeposição remanescente (Tabela 3).

A não consideração do aporte de C pelas raízes por rizodeposição representa um viés metodológico na avaliação da eficiência de estabilização no solo do C derivado das raízes e biomassa aérea, a qual é calculada pela relação entre o C acumulado no solo e o C adicionado (KONG; SIX, 2010). Por isso, quando não é considerado o valor do C aportado pela rizodeposição remanescente a eficiência de acúmulo de C das raízes pode ser superestimada.

Tabela 2. Contribuição do C adicionado via biomassa aérea e raízes em diferentes culturas na MO do solo

Planta	C-biomas sa-Aérea		C-Raiz		Duração do experimento	Camada de solo	Referência
	g C m ⁻²	%	g C m ⁻²	%	meses	cm	
Ervilhaca	20	13	23,5	50	5	0-30	PUGET; DRINKWATER, 2001
Ervilhaca	9	4	22,8	52	4,5	0-15	KONG; SIX, 2010
Ervilhaca	14	5	32,0	57	12	0-30	TAHIR, 2015
Ervilha	12	5	18,3	19	12	0-30	TAHIR, 2015
Trigo	9	3	23,8	35	12	0-30	TAHIR, 2015
Trigo	40	16	69,4	24	18	0-50	BUYANOVSKY; WAGNER, 1987
Centeio	6,0	11	12,0	18	5	0-15	AUSTIN <i>et al.</i> , 2017
Centeio	5,0	9	15,0	22	12	0-15	AUSTIN <i>et al.</i> , 2017
Centeio	6,0	11	6,0	9	17	0-15	AUSTIN <i>et al.</i> , 2017

Tabela 3. Dados de aporte de C via biomassa aérea, de raízes e rizodeposição remanescente de diferentes culturas, países e métodos.

Método	País	Planta	Camada	C-biomassa-	C-Rizo ¹	C biomassa-	C total-Raiz	C- Rizo ²	Relação PA:RAIZ	Referência	
			de solo	Aérea		Raiz					
			cm	g C m ⁻²				%			
Enriquecimento em pulso ¹⁴ CO ₂	México	Trigo	0-50	253	135	154	289	47	0,9	BUYANOVSKY; WAGNER, 1987	
	França	Milho	0-80	730	nc	114	114	nc	6,4	BALESDENT; BALABANE, 1992	
Abundância natural de ¹³ C		Trigo	0-30	158	45	45	90	50	1,8	BOLINDER; DUBUC, 1997	ANGERS;
	Canadá	Aveia	0-30	68	57	57	114	50	0,6	BOLINDER; DUBUC, 1997	ANGERS;
		Cevada	0-30	87	96	96	192	50	0,5	BOLINDER; DUBUC, 1997	ANGERS;
Enriquecimento em pulso ¹³ CO ₂ in situ	EUA	Ervilhaca	0-30	151	19	30	48	39	3,1	PUGET; DRINKWATER, 2001	
	EUA	Ervilhaca	0-20	230	nc	44	44	nc	5,2	KONG; SIX, 2010	
		Milho	0-75	664	140	80	220	64	3,0	HIRTE <i>et al.</i> , 2018	
	Suíça	Milho	0-75	434	53	40	93	57	4,7	HIRTE <i>et al.</i> , 2018	
		Trigo	0-75	664	73	61	134	54	5,0	HIRTE <i>et al.</i> , 2018	
		Trigo	0-75	467	63	47	110	57	4,2	HIRTE <i>et al.</i> , 2018	
	EUA	Centeio	0-15	55	23	45	68	34	0,8	AUSTIN <i>et al.</i> , 2017	
		Ervilhaca	0-30	261	17	40	56	30	4,7	TAHIR, 2015	
Brasil	Trigo	0-30	260	15	54	68	22	3,8	TAHIR, 2015		
	Ervilha	0-30	213	24	72	96	25	2,2	TAHIR, 2015		

C-Rizo¹: C da rizodeposição remanescente; C-Rizo²: porcentagem do C da rizodeposição em relação ao C total aportado pelas raízes; nc: não consta.

3. Mecanismos de estabilização do C no solo e técnicas de fracionamento físico

A estabilização do C na MO do solo garante a qualidade do solo e dos ecossistemas, e pode ocorrer pela atuação de três principais mecanismos: recalcitrância bioquímica, proteção física da MO por oclusão em agregados e associação organo-mineral (RASSE; RUMPEL; DIGNAC, 2005; SOLLINS; HOMANN; CALDWELL, 1996). A recalcitrância bioquímica do resíduo tem sido considerada de relevância secundária, pois a microbiota tem aparato enzimático para degradar qualquer molécula orgânica. Caso a molécula esteja exposta, sem proteção física ou química, a mineralização ocorrerá (ANGST *et al.*, 2017, 2021; DUNGAIT *et al.*, 2012; SCHMIDT *et al.*, 2011). Assim, a estabilidade da MO ocorre principalmente pela oclusão em agregados de solo e interação organo-mineral (ANGST *et al.*, 2021; KING *et al.*, 2019).

A agregação do solo resulta na compartimentação da MO do solo, biomassa microbiana e microrganismos decompositores (inacessibilidade espacial) diminuindo a taxa de decomposição (DUNGAIT *et al.*, 2012; SCHMIDT *et al.*, 2011). Quanto menor o agregado a inacessibilidade aumenta, pois diminui a difusão de oxigênio e a oferta de energia para a microbiota é reduzida, o que conduz a diminuição da diversidade e da atividade da microbiota (DAVINIC *et al.*, 2012; DUNGAIT *et al.*, 2012). Além disso, compostos orgânicos como suberina e cutina atuam como agentes cimentantes e são preferencialmente acumulados em microagregados, conferindo maior hidrofobicidade à MO (ANGST *et al.*, 2017; MAO *et al.*, 2016), reduzindo, portanto, a acessibilidade dos microrganismos à fonte de C. Logo, o tamanho do agregado é inversamente proporcional à quantidade de energia necessária para perturbá-lo (DUNGAIT *et al.*, 2012). Diante do exposto, os agregados são ambientes adequados para que ocorra a interação da MO com as superfícies minerais. Portanto, o maior acúmulo de C no solo tem ocorrido como resultado da sua estabilização por associação organo-mineral e formação de microagregados dentro dos macroagregados, sendo esses mecanismos cruciais para a proteção da MO do solo em tanto ambientes temperados como em tropicais (FULTON-SMITH; COTRUFO, 2019; SIX *et al.*, 2002, 2004; VELOSO; CECAGNO; BAYER, 2019).

O fracionamento físico da MO tem sido utilizado para estudar a dinâmica e estabilização do C no solo (CAMBARDELLA; ELLIOTT, 1992), tanto a

separação em classes de agregados, como o fracionamento granulométrico e/ou densimétrico (VON LÜTZOW *et al.*, 2007). O fracionamento físico da MO tem a finalidade de separar as frações da MO que tenham similaridade de composição e dos mecanismos de estabilização atuantes, bem como de funcionalidade (POEPLAU *et al.*, 2018; VON LÜTZOW *et al.*, 2007).

A determinação da distribuição de agregados estáveis em água divide o solo em três classes principais, os macroagregados grandes (> 2 mm), macroagregados ($> 0,250$ mm) e microagregados ($< 0,250$ mm) (SIX *et al.*, 2004). Os macroagregados são mais complexos, tem maior diversidade microbiana e é onde o C jovem, recém adicionado, é acumulado (ANGERS; RECOUS; AITA, 1997; BLAUD *et al.*, 2012; DAVINIC *et al.*, 2012; SAMSON *et al.*, 2020). Nessa estrutura, a MO pode ser acumulada como MOP, que é composta por resíduos de planta parcialmente decompostos, e é a fração que mais contribui para a ciclagem de nutrientes, sendo mais sensível ao manejo e dependente da sua recalcitrância bioquímica (CAMBARDELLA; ELLIOTT, 1992; SAMSON *et al.*, 2020; SIX *et al.*, 2002). Por sua vez, a MO associada aos minerais, que depende da capacidade dos minerais da fração argila em interagir com a MO, é composta predominantemente de produtos de origem microbiana, tem uma dinâmica menor e contribui para o acúmulo de C a longo prazo (CAMBARDELLA; ELLIOTT, 1992; SIX *et al.*, 2002; VON LÜTZOW *et al.*, 2007). Nos microagregados, o C também é acumulado em MOP e MO associada aos minerais, porém, a proteção física é maior, o que resulta na menor ciclagem em relação aos macroagregados.

4. Qualidade dos resíduos vegetais, formação e estabilização da MO do solo

A planta é a principal fonte de energia e matéria para os macro e microrganismos edáficos, por isso ela tenta direcionar os processos bioquímicos que ocorrem no solo (HAICHAR *et al.*, 2014; LYNCH; WHIPPS, 1990; VEZZANI *et al.*, 2018). É amplamente reconhecido que a formação da MO é intermediada pelos microrganismos (BURDON, 2001; WAKSMAN, 1936), mas o papel dos microrganismos do solo como agentes de formação de MO era investigado predominantemente quanto a sua participação no processo de transformação catabólica, seja a mineralização do C a CO_2 ou compostos modificados no solo via microbiota (LIANG; KÄSTNER; JOERGENSEN,

2020). Não era considerado relevante que os produtos microbianos e a necromassa poderia ser acumulada no solo, acreditando-se que os principais componentes do C estável do solo seriam restos vegetais bioquimicamente resistentes à decomposição microbiana (WAKSMAN, 1936).

A evolução das abordagens analíticas, como o uso de isótopos e de biomarcadores moleculares, permitiu rastrear o C adicionado ao solo e identificar que em solos agrícolas os principais reservatórios da MO estável são compostos, predominante, de produtos microbianos e potencialmente lábeis, cuja estabilidade advém da interação com os minerais (BRIEDIS *et al.*, 2020; COTRUFO *et al.*, 2015; COURTIER-MURIAS *et al.*, 2013; CREAMER *et al.*, 2019; KALLENBACH *et al.*, 2015a; LIANG; SCHIMEL; JASTROW, 2017; PEIXOTO *et al.*, 2020; ZHU *et al.*, 2020). Contudo, ainda permanece pouco conhecido como esses processos mediados por microrganismos levam à estabilização do C do solo (LIANG; SCHIMEL; JASTROW, 2017).

Por isso, foi proposto por LIANG *et al.* (2017) uma base teórica para estudar a ação dos microrganismos na formação da MO do solo. Segundo esses autores a formação da MO pode ocorrer por duas vias, pelas modificações *ex vivo* e “turnover” *in vivo* de substâncias orgânicas. A modificação *ex vivo* implica na reestruturação ou alteração de moléculas por exo-enzimas (ou seja, processos puramente catabólicos), enquanto o “turnover” *in vivo* implica na quebra e ressíntese de moléculas e deve ocorrer uma mistura de processos catabólicos e anabólicos. Logo, o acúmulo de C no solo vai depender da relação entre a atividade catabólica e anabólica, ou seja, da fisiologia microbiana e, da capacidade do solo em proteger os produtos microbianos e necromassa via associação organomineral (CREAMER *et al.*, 2019; KALLENBACH *et al.*, 2015a; LIANG; SCHIMEL; JASTROW, 2017). Por isso, fatores como temperatura, umidade do solo, teor e tipo de minerais presentes na fração argila, profundidade do solo, difusão de oxigênio, pH e fertilidade do solo e qualidade do resíduo vegetal regulam a dinâmica e acúmulo de C na MO estável, pois impulsionam mudanças na atividade e composição da comunidade microbiana (BRUNEL *et al.*, 2020; DUNGAIT *et al.*, 2012).

A qualidade do resíduo vegetal refere-se à capacidade do mesmo em fornecer nutrientes e moléculas orgânicas para os processos catabólicos e anabólicos da microbiota edáfica (DUNGAIT *et al.*, 2012). Portanto, resíduos

ricos em N e energia (baixa razão C:N e Lignina:N), são classificados como resíduos de alta qualidade (por exemplo, leguminosas) e são rápida e facilmente metabolizados pela microbiota (COTRUFO *et al.*, 2013). Já os resíduos vegetais de baixa qualidade, seriam aqueles com baixo teor de N, alta razão C:N e Lignina:N e pobres em energia, o que retarda a sua mineralização pela microbiota do solo (por exemplo, gramíneas) (CASTELLANO *et al.*, 2015). Portanto, a qualidade do resíduo vegetal é um fator primordial para o acúmulo de C no solo, pois regula a atividade microbiana (DUNGAIT *et al.*, 2012). Considerando que no solo os microrganismos tendem a estar em estado de inanição, por limitação de energia e nutrientes, ao adicionar resíduos vegetais com baixo teor de N e composto por moléculas mais complexas, a mineralização (catabolismo) e o anabolismo são limitados por falta de energia de ativação (DUNGAIT *et al.*, 2012; KNICKER, 2011b). Desta forma, o resíduo vegetal tende a permanecer por mais tempo no solo e contribuir para o armazenamento de C na MOP (CASTELLANO *et al.*, 2015; COTRUFO *et al.*, 2015).

Por outro lado, os resíduos de alta qualidade, como das leguminosas, podem suprir N e energia para a microbiota edáfica e, assim, contribuir para ativar e aumentar as taxas de crescimento e a produção de metabólitos microbianos (COTRUFO *et al.*, 2013, 2015; DUNGAIT *et al.*, 2012), considerando a não ocorrência de um outro fator limitante à atividade microbiana (HO; DI LONARDO; BODELIER, 2017). Portanto, resíduos de alta qualidade resultam numa maior eficiência do uso do carbono (EUC) pelos microrganismos (eficiência é relação entre a quantidade de ATP liberada através do catabolismo versus processo de anabolismo), e uma maior proporção do C adicionado é acumulada na MO do solo (KALLENBACH *et al.*, 2015a).

A estabilização do C derivado da microbiota ocorre pela associação com os minerais do solo, oclusão em agregados, ou encapsulamento em nanoporos no solo e/ou em moléculas hidrofóbicas, onde a biomassa microbiana viva e suas enzimas têm acesso restrito (CREAMER *et al.*, 2019; LIANG; SCHIMEL; JASTROW, 2017). Nesse sentido, os produtos microbianos, que são ricos em N, interagem com a matriz mineral, criando novos pontos de ligação, ou, com compostos orgânicos já associados aos minerais (KLEBER; SOLLINS; SUTTON, 2007; KNICKER, 2011a; KOPITTKER *et al.*, 2018; SOLLINS *et al.*, 2006; VIDAL *et al.*, 2018). Além disso, os compostos solúveis vegetais ricos em

N, derivado das leguminosas podem associar-se aos minerais por adsorção direta (VELOSO *et al.*, 2022). A força e reversibilidade da associação organo-mineral varia com a mineralogia do solo, composição bioquímica do resíduo vegetal, pH da solução e força iônica (CREAMER *et al.*, 2019). Por exemplo, em solos com predominância de Al amorfo, pouco cristalino e alta área superficial específica ocorre a sorção da necromassa. Já, quando predominam minerais primários com menor área superficial específica, a necromassa é imobilizada por microrganismo (na biomassa microbiana), ou seja, o C fica em um reservatório mais ativo e sensível a distúrbios externos (CREAMER *et al.*, 2019). A partir disso, pode-se entender que a composição mineralógica do solo tem o potencial de mudar o destino do C no solo. Em solos subtropicais sob SPD e leguminosa como planta de cobertura, a associação do C aos minerais é o mecanismo chave de estabilização da MO e conduz o maior acúmulo C no solo (VELOSO *et al.*, 2018). Contudo, é importante reforçar que o acúmulo de C derivado de produtos microbianos e de compostos orgânicos lábeis depende da capacidade do solo em proteger a necromassa e os metabólitos microbianos. Por outro lado, resíduos de gramíneas devem contribuir mais para o acúmulo de C via MOP em solos arenoso, com menor área superficial específica, e com baixo déficit de saturação de C (ANGST *et al.*, 2017; CASTELLANO *et al.*, 2015; SIX *et al.*, 2002). Também é importante observar que sendo o “turnover” da MOP mais rápido do que da MO associada aos minerais, o estoque de C em solos arenosos é mais sensível e dependente do manejo do solo e do constante aporte de resíduos vegetais (DUNGAIT *et al.*, 2012; POIRIER; ROUMET; MUNSON, 2018).

A estrutura da comunidade microbiana também pode ser modulada pela qualidade dos resíduos vegetais e, conseqüentemente, pode influenciar as taxas de acúmulo de C. Isso porque, comunidades microbianas mais eficientes na assimilação de C podem produzir enzimas que são mais específicas para atingir o substrato, o que aumenta a eficiência enzimática e da EUC (SAUVADET *et al.*, 2018). Os microrganismos podem ser classificados conforme a sua capacidade de degradar compostos orgânicos. Nesse sentido, os copiotróficos são caracterizados pelo rápido crescimento e uso de compostos orgânicos lábeis recém adicionados ao solo pela planta ou seus resíduos (por exemplo: bactérias gram-negativas e alguns fungos). Por sua vez, os oligotróficos têm uma taxa de

crescimento menor e degradam compostos orgânicos mais recalcitrantes, assim como a MO estável (por exemplo: fungos e bactérias gram-positivas) (FANIN *et al.*, 2019; FIERER; BRASFORD; JACKSON, 2007; HO; DI LONARDO; BODELIER, 2017).

Contudo, identificar as espécies microbianas responsáveis pela formação de MO no solo e fazer ligações entre a diversidade microbiana e redundância funcional no *turnover*, armazenamento e sequestro da MO do solo é ainda um grande desafio devido ao elevado grau de complexidade (LIANG; KÄSTNER; JOERGENSEN, 2020; SCHMIDT *et al.*, 2011). Por exemplo, a já mencionada teoria proposta por Cotrufo *et al.* (2013) considera que o acúmulo de C é maior quando adicionados ao solo compostos orgânicos lábeis, pois aumenta a produção de metabolitos microbianos e a EUC. Nesse raciocínio é esperado o aumento da população de microrganismos copiotróficos principalmente bactérias gram-negativas, como quantificado por SAUVADET *et al.* (2018) e MIAO *et al.* (2021). Porém os fungos são classificados como oligotróficos e considerados os microrganismos com maior EUC, pois apresentam maior rendimento de biomassa para cada unidade de substrato consumida (HO; DI LONARDO; BODELIER, 2017; KALLENBACH; FREY; GRANDY, 2016; LI *et al.*, 2018; MIAO *et al.*, 2021), o que resulta no aumento do acúmulo de C armazenado principalmente na MO associado aos minerais (KALLENBACH; FREY; GRANDY, 2016; VELOSO *et al.*, 2020a). Além disso, a maior contribuição dos fungos pode estar relacionada ao seu envolvimento na estabilização de macroagregados, o que resulta numa maior proteção física da MO por oclusão (HELFRICH *et al.*, 2008).

Essas aparentes divergências também podem estar relacionadas à dificuldade em classificar os microrganismos em copiotróficos e oligotróficos, pois o microbioma edáfico é complexo e nem todos os microrganismos podem ser cultivados em meio de culturas, o que dificulta fazer inferências diretas sobre a fisiologia microbiana (HO; DI LONARDO; BODELIER, 2017). Além disso, o nível taxonômico em que as comunidades edáficas são classificadas é generalista, por exemplo, o filo das *Actinobacteria* tem sido geralmente considerado mais copiotrófico entre os filios microbianos do solo (RAMIREZ; CRAINE; FIERER, 2012), porém alguns membros do filo (por exemplo, *Actinomycetales*) são capazes de quebrar macromoléculas orgânicas

complexas (por exemplo, lignina, celulose; (BARDER & CRAWFORD, 1981). Logo, a classificação dos microrganismos conforme sua capacidade de degradar composto orgânicos não é precisa.

5. Estabilização do C das raízes de plantas de cobertura

Em comparação a biomassa aérea das plantas, uma maior eficiência de acumular o C aportado pelas raízes pode resultar do fato de que este está, em grande parte, ocluído em macro e microagregados de solo (TISDALL & OADES, 1982). Além disso, as raízes podem se associar com fungos que recobrem o tecido radicular, protegendo as raízes mortas da decomposição (POIRIER; ROUMET; MUNSON, 2018). Quando vivas, as raízes liberam polissacarídeos que podem agir como agentes cimentantes de agregados e as hifas de fungos atuarem como agente de estabilização dos macroagregados (TISDALL & OADES, 1982). Logo, a associação das raízes com fungos pode aumentar a proporção de macroagregados estáveis e o tempo de permanência das raízes no solo (HELFRICH *et al.*, 2008; POIRIER; ROUMET; MUNSON, 2018). E algumas moléculas conferem maior recalcitrância às raízes, como a suberina que confere caráter hidrofóbico à MO (MAO *et al.*, 2016).

Apesar da provável maior recalcitrância bioquímica das raízes em relação a biomassa da parte aérea, acredita-se que esse seja um fator secundário e que a maior contribuição das raízes para o acúmulo de C seja principalmente pela inacessibilidade espacial da MO do solo decorrente da sua localização no interior de agregados, e devido a estabilização química decorrente da associação organomineral (DENEFF; SIX, 2006; TAHIR *et al.*, 2018). As gramíneas são caracterizadas por plantas com sistema radicular abundante e alta densidade de raízes e resíduos de baixa qualidade, em comparação com as leguminosas, por isso, é esperado que as gramíneas contribuam de forma expressiva para a formação de agregados e o acúmulo de MOP ocluída em agregados (MARTINS; ANGERS; CORÁ, 2012). Isso porque plantas com alta densidade de raízes pode contribuir para a estabilização de macroagregados pelo emaranhamento e enredamento das partículas de solo, alta produção de exsudatos que atuam como agente cimentante e estimulam a atividade microbiana, aglutinação de partículas de solo, além dos ciclos de molhamento-secagem do solo induzido

pelas raízes, que resultam na estabilização dos agregados (POIRIER; ROUMET; MUNSON, 2018). E o C da rizodeposição pode contribuir mais expressivamente para a MOAM no caso das gramíneas pois a taxa de alocação de C é maior do que das leguminosas (PAUL, 2016).

A contribuição das raízes das gramíneas ao acúmulo de C no solo deve estar relacionada à maior quantidade de C adicionado ao solo via rizodeposição e massa de raízes (SHAMOOT *et al.*, 1968; PAUL, 2016), pois devido a qualidade da rizodeposição e do tecido radicular das gramíneas ser menor em relação as leguminosas (WICHERN *et al.*, 2007), a eficiência de acúmulo de C na MO associada aos minerais deve ser menor. Isso porque, a decomposição da MOP derivada das raízes das gramíneas tende a gerar menores quantidades de produtos microbianos em relação à MOP originada de leguminosas (COTRUFO *et al.*, 2013). Ou seja, a eficiência da conversão do C da MOP em C na MO associada aos minerais das leguminosas tende ser maior do que das gramíneas. Assim, se a produção de C das raízes for semelhante entre gramíneas e leguminosas, há uma tendência que as raízes das leguminosas contribuam mais para o acúmulo de C em frações mais estáveis e que perduram no solo por mais longo prazo (MO associada aos minerais). Porém, essa hipótese é baseada na abordagem de estabilização do C centrada no solo proposta por COTRUFO *et al.* (2013) e para solos sob clima tropical e subtropical, com predominância de caulinita e óxidos de Fe e Al, onde a interação com os grupos funcionais da MO é intensa. Pois em solo de clima temperado e/ou solos de textura arenosa, é relatado uma maior contribuição das raízes de gramíneas ao comparar com leguminosas (WILLIAMS; MYROLD; BOTTOMLEY, 2006).

CAPÍTULO III – ESTABILIZAÇÃO DO C DERIVADO DE RAÍZES E BIOMASSA AÉREA DE PLANTAS DE COBERTURA INVERNAIS EM SOLO SUBTROPICAL SOB PLANTIO DIRETO

1. Introdução

A eficiência do C aportado pelas plantas em estabilizar no solo é determinante do impacto da agricultura conservacionista no sequestro de C no solo, na melhoria da qualidade do solo e da sua capacidade produtiva (AMADO *et al.*, 2006; BAYER *et al.*, 2000; SÁ *et al.*, 2013; VELOSO *et al.*, 2018). O não revolvimento do solo no sistema plantio direto (SPD) e a utilização de plantas de cobertura do solo em rotação com culturas comerciais são práticas essenciais no controle da erosão hídrica, supressão de plantas daninhas, melhoria da agregação do solo, e no aporte de biomassa e acúmulo de MO no solo (BAYER *et al.*, 2000; KALLENBACH *et al.*, 2015; MCDANIEL; TIEMANN, 2014; TIEMANN *et al.*, 2015; VELOSO *et al.*, 2018).

Apesar das maiores taxas de acúmulo de C serem observadas nos anos iniciais, evidências obtidas em experimento de longa duração no Sul do Brasil indicam que o acúmulo de C na superfície e subsuperfície do solo continua mesmo após 30 anos de sistemas conservacionistas de manejo do solo (VELOSO *et al.*, 2018). E por mais que, as gramíneas adicionem mais C via biomassa aérea e raízes e o acúmulo de C seja positivamente correlacionado com a adição (VELOSO; CECAGNO; BAYER, 2019), os sistemas com leguminosas têm uma maior eficiência de estabilização do C no solo (VELOSO; CECAGNO; BAYER, 2019; VELOSO *et al.*, 2018). Por isso, fica a dúvida se o efeito da leguminosa é indireto, por aumentar a produtividade da cultura subsequente (por exemplo, milho) devido ao sincronismo entre a disponibilidade de N via mineralização da biomassa da leguminosa e a demanda de

N pelo milho, o qual apresenta maior produtividade de grãos e aporta maior quantidade de biomassa ao solo (ZANATTA *et al.*, 2007). Ou se esse efeito da inserção da leguminosa é direto pela maior eficiência em estabilizar o C aportado ao solo, visto que os resíduos de leguminosas são ricos em N e isso pode ampliar a eficiência do metabolismo microbiano sobre o C adicionado e da sua estabilização pela interação com as superfícies dos minerais (COTRUFO *et al.*, 2013, 2015; KALLENBACH *et al.*, 2015; KLEBER; SOLLINS; SUTTON, 2007; KOPITTKE *et al.*, 2018; VIDAL *et al.*, 2018). Essa maior eficiência do metabolismo microbiano com fontes de C ricas em N e a consecutiva estabilização por associação organo-mineral é parcialmente suportada pela predominante origem microbiana desse C associado aos minerais (BRIEDIS *et al.*, 2020; COTRUFO *et al.*, 2015; CREAMER *et al.*, 2019; LIANG; KÄSTNER; JOERGENSEN, 2020; LIANG; SCHIMEL; JASTROW, 2017; PEIXOTO *et al.*, 2020; ZHU *et al.*, 2020), embora a sorção direta de compostos orgânicos solúveis aos minerais também ocorra (MIKUTTA *et al.*, 2019; SOKOL; SANDERMAN; BRADFORD, 2019). Nesse sentido, além da maior eficiência do metabolismo microbiano, as leguminosas apresentam maiores quantidades de fração solúvel, em relação as gramíneas (REDIN *et al.*, 2014; TAHIR *et al.*, 2018) e, por isso também podem contribuir para o acúmulo de C na MO associada aos minerais via sorção direta.

Outro ponto relevante é a eficiência de estabilização do C aportado via raízes e biomassa aérea. Aparentemente, o C derivado das raízes das culturas estabiliza em maior proporção do que o C aportado via biomassa aérea (FULTON-SMITH; COTRUFO, 2019; KONG; SIX, 2010; PUGET; DRINKWATER, 2001; RASSE; RUMPEL; DIGNAC, 2005; TAHIR *et al.*, 2018), mas pouco se sabe sobre os mecanismos envolvidos principalmente em solos tropicais e subtropicais em plantio direto. A expectativa é que o C derivado das raízes apresente uma maior eficiência de estabilização do que a biomassa aérea, isso porque as raízes aportam C lábil de forma contínua durante todo o crescimento e desenvolvimento da planta via rizodeposição – que compreende exsudatos, mucilagem e células bordas que são desprendidas durante o crescimento radicular (KUZYAKOV; BLAGODATSKAYA, 2015). Além de parte deste C ser aportado no interior de

agregados de solo e, portanto, com menor acessibilidade de microrganismos e suas enzimas, a matriz mineralógica das camadas subsuperficiais na qual boa parte do C é aportado apresenta um maior déficit de saturação de C do que no solo das camadas superficiais) e, assim, tem maior potencial de estabilização por associação organo-mineral (DENEFF; SIX, 2006; DENEFF *et al.*, 2004).

Estudos recentes suportam que a eficiência de estabilização do C derivado da rizodeposição é maior em relação ao C derivado da biomassa aérea e radicular (SOKOL *et al.*, 2019; SOKOL; SANDERMAN; BRADFORD, 2019). Isso porque, os compostos orgânicos lábeis presentes na rizodeposição podem ser rapidamente anabolizados pela comunidade microbiana densa da rizosfera – um precursor chave para a formação da MO associada aos minerais de origem microbiana (COTRUFO *et al.*, 2013; KALLENBACH; GRANDY; FREY, 2016). Além disso, as raízes enovelam as partículas do solo e formam agregados que promovem a oclusão da MO, a qual fica protegida da ação dos microrganismos e de suas enzimas, o que pode diminuir as taxas de decomposição da MO do solo (DUNGAIT *et al.*, 2012; SCHMIDT *et al.*, 2011). As raízes, também, podem ser recobertas por hifas de fungos, que conferem maior recalcitrância bioquímica (HELFRICH *et al.*, 2008; POIRIER; ROUMET; MUNSON, 2018). Portanto, em comparação com as leguminosas, as gramíneas tendem a contribuir mais para o acúmulo de C derivado das raízes devido à abundância do sistema radicular (BURR-HERSEY *et al.*, 2017) e pela maior alocação de C fotossintetizado para rizodeposição (PAUL, 2016), a qual pode chegar a 30-50 % do C fotossintetizado (AUSTIN *et al.*, 2017; HIRTE *et al.*, 2018b).

O presente estudo teve por objetivo avaliar a eficiência de estabilização do C aportado pela biomassa aérea e raízes (biomassa radicular e rizodeposição) de duas plantas de cobertura de solo invernais (aveia preta e ervilhaca) num Argissolo subtropical em plantio direto. Os mecanismos de estabilização envolvidos também foram acessados a partir do fracionamento físico da MO do solo aos 10 e 21 meses da sua adição ao solo.

2. Material e Métodos

2.1 Caracterização do solo

O estudo foi baseado em colunas de solo extraídas de uma área em sistema plantio direto (SPD) de longo prazo (> 20 anos) localizada na Estação Experimental Agronômica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, município de Eldorado do Sul, Rio Grande do Sul, Brasil (30°51'S, 51°38'W). O clima local é classificado como subtropical úmido, tipo Cfa segundo Koepen, com temperatura média anual de 19,4 °C e precipitação anual acumulada de 1440 mm (ALVARES *et al.*, 2013). O solo é um Argissolo Vermelho (220 g kg⁻¹ argila, 240 g kg⁻¹ silte e 540 g kg⁻¹ areia), o qual nos últimos 20 anos foi cultivado com a rotação soja (*Glycine max*) milho (*Zea mays*) no verão e aveia branca (*Avena sativa*), nabo forrageiro (*Brassica rapa* L) e ervilhaca (*Vicia sativa* L.) no inverno. Algumas características do solo são apresentadas na Tabela 4.

Tabela 4. Atributos mineralógicos, densidade o solo, teor de C e abundância natural do ^{13}C do solo da Estação Experimental Agronômica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Mineralogia^a	
Fe ^b , g kg ⁻¹ solo	0,9
Fed ^c , g kg ⁻¹ solo	11,8
Feo/Fed	0,1
Gt/(Gt+Hm) ^d	0,1
Densidade do solo, Mg m⁻³	
0-5 cm	1,68
5-10 cm	1,69
10-20 cm	1,74
20-30 cm	1,73
Teor de C, g kg⁻¹ solo	
0-5 cm	16,56
5-10 cm	9,94
10-20 cm	8,66
20-30 cm	9,08
$\delta^{13}\text{C}$, ‰	
0-5 cm	-20,56
5-10 cm	-19,35
10-20 cm	-18,19
20-30 cm	-17,11

a Dados originais apresentado por INDA *et al.* (2007).

b Fe solúvel em oxalato de amônio.

c Fe solúvel em ditonito-citrato-bicarbonato.

d Gt: goethita; Hm: hematita.

2.2 Coleta das colunas de solo e cultivo das plantas

Cinquenta e sete colunas de solo foram extraídas em cilindros de PVC (20 cm \varnothing x h 30 cm). Os cilindros foram inseridos no solo com auxílio de um pistão

hidráulico, deslocados lateralmente e extraídos (Apêndica). Nas colunas de solo foram cultivadas, em casa de vegetação, aveia preta (*Avena strigosa* L) ou ervilhaca (*Vicia sativa* L.). Logo antes da semeadura, foi realizada aplicação superficial de doses equivalentes a 3,2 Mg ha⁻¹ de calcário dolomítico, 100 kg ha⁻¹ de fósforo e 125 kg ha⁻¹ potássio em uma única dose, enquanto o nitrogênio foi parcelado em quatro aplicações iguais, totalizando 160 kg ha⁻¹ e 100 kg ha⁻¹ para a ervilhaca e aveia, respectivamente. A aplicação de N visou a alta produção de biomassa da aveia, e a inibição da fixação simbiótica de N com a finalidade de obter um elevado enriquecimento de ¹⁵N da biomassa da leguminosa, embora os resultados de ¹⁵N não tenham sido tratados no presente estudo. A semeadura das plantas de cobertura foi realizada, em 11 de junho de 2019, numa densidade de doze sementes por coluna de solo, tendo sido mantidas após a emergência seis plântulas por coluna.

Vinte e dois dias após a emergência foi realizada a aplicação do fungicida epoxiconazol + piraclostrobina (Produto comercial Opera) numa dose equivalente a 1 L ha⁻¹ e 200 L ha⁻¹ de calda, a fim de prevenir a incidência de doenças foliares. A umidade e temperatura do solo foram monitoradas com uso de sensores (Decagon, 5TE) e o suprimento de água foi realizado através da manutenção da umidade do solo entre 60 e 80 % da capacidade de campo.

2.3 Enriquecimento das plantas com ¹³C-CO₂

O enriquecimento das plantas com ¹³C foi realizado em câmaras de vidro hermeticamente fechadas as quais foram sobrepostas a bases metálicas que continham as colunas de solo. O espaço entre as colunas de solo nas bases metálicas foi preenchido com areia para evitar a exposição das superfícies laterais das colunas e a elevação excessiva da temperatura do solo das colunas, o que poderia aumentar a atividade da microbiota e liberação de ¹²CO₂ pela decomposição da MO, podendo dificultar o enriquecimento da atmosfera com ¹³CO₂ e, portanto, do nível de enriquecimento do tecido vegetal com ¹³C. À medida que as plantas foram crescendo, extensores foram sendo incorporados de forma gradual entre a base metálica e a câmara de vidro com encaixes em canaletas

que eram preenchidas com água visando manter o sistema hermeticamente fechado.

Para cada espécie de planta de cobertura, 12 colunas com solo cultivados foram submetidas a uma atmosfera enriquecida com ^{13}C e nas outras 12 colunas com solo cultivados foram mantidas sob atmosfera natural (98,89% de ^{12}C). Além disso, 9 colunas com solo não foram cultivados e foram usados para avaliação da abundância natural de ^{13}C no solo.

O enriquecimento com ^{13}C foi realizado em um sistema de pulsos semanais em que a atmosfera das câmaras foi enriquecida a partir da aplicação de bicarbonato de sódio ($\text{Na}^{13}\text{HCO}_3$) em 12 recipientes individuais, dispostos internamente na parte superior da câmara. O sistema de pulsos consistiu na exposição das plantas à uma atmosfera homogeneamente enriquecida com $^{13}\text{CO}_2$ em intervalos semanais durante os diversos estádios de desenvolvimento (BROMAND *et al.*, 2001; TAHIR *et al.*, 2016). No presente estudo, o enriquecimento com ^{13}C iniciou aos 29 dias após a emergência e foram mantidos até o florescimento da ervilhaca (87 dias após a emergência) e o enchimento de grãos da aveia (102 dias após a emergência). A homogeneização da atmosfera interna da câmara foi realizada pelo acionamento de ventiladores, sendo um ventilador (10 x 10 cm) fixado na posição central e dois outros (8 x 8 cm) posicionados lateralmente e direcionados para o centro da câmara.

O enriquecimento das plantas com ^{13}C foi realizado entre 9:00 e 11:00 h da manhã. A formação da atmosfera enriquecida de $^{13}\text{C-CO}_2$ foi realizada pela injeção de uma solução de HCl 2 mol L^{-1} ao $\text{Na}^{13}\text{HCO}_3$ disposto num dos recipientes internos à câmara (Apêndice), sendo os níveis de CO_2 da atmosfera interna monitorados com analisador de CO_2 (IRGA- EXTECH, SD800). Quando do fechamento da câmara, a atividade fotossintética da planta fez a concentração de CO_2 inicial (~430 ppm) reduzir internamente, sendo a primeira injeção realizada quando a concentração de CO_2 interna atingiu 327 ppm. Considerando a diluição do $^{13}\text{CO}_2$ na câmara, na primeira injeção foi utilizado 99% átomos ^{13}C para a formação de uma atmosfera enriquecida com 33 % átomo $^{13}\text{CO}_2$ (V/V). As injeções realizadas na sequência foram feitas quando a concentração de CO_2 interna da

câmara atingiu 250 ppm. Devido a diferença no espectro de absorvância entre o $^{13}\text{CO}_2$ e $^{12}\text{CO}_2$, o IRGA não detecta a proporção total de $^{13}\text{CO}_2$, e nesse controle da concentração de CO_2 e realização de novas injeções de ^{13}C na câmara foi considerado que o IRGA detectava 72% do $^{13}\text{CO}_2$ existente (BROMAND *et al.*, 2001).

A quantidade inicial de NaHCO_3 necessária para o enriquecimento foi mensurada a partir de uma curva de calibração utilizando $\text{NaH}^{12}\text{CO}_3$ (Apêndice). Com a inserção de novos extensores a quantidade de NaHCO_3 foi aumentada gradualmente, conforme o aumento do volume interno das câmaras. No presente estudo, quando a câmara estava com um volume de 386 L, foi utilizado 0,255 g de $\text{NaH}^{13}\text{CO}_3$ na primeira injeção e 0,425 g NaHCO_3 (33% átomo ^{13}C) nas injeções sucessivas, sendo adicionado 5 mL de HCL 2 Mol L^{-1} a cada injeção, a fim de garantir que a concentração de CO_2 interna da câmara oscilasse entre 250 e 350 ppm (Bromand *et al.*, 2001, Apêndice).

Por coluna, estima-se que a aveia consumiu 2,9 g $\text{NaH}^{13}\text{CO}_3$ (11 pulsos) e a ervilhaca 2,3 g $\text{NaH}^{13}\text{CO}_3$ (13 pulsos) durante todo o período de enriquecimento (Apêndice). Em cada pulso (dia de enriquecimento), foram realizadas de 7 a 12 injeções de $\text{NaH}^{13}\text{CO}_3$ visando manter a concentração de $^{13}\text{CO}_2$ na atmosfera interna da câmara dentro dos limites estabelecidos por 1,5 h, em média. Após, as 1,5h de duração do enriquecimento foi aplicada uma última injeção, sendo $\text{NaH}^{12}\text{CO}_3$ (99% de átomo ^{12}C), visando aumentar a eficiência de enriquecimento das plantas com ^{13}C pois evita a depleção de CO_2 na atmosfera interna, mantendo a taxa fotossintética das plantas e a assimilação do $^{13}\text{CO}_2$ remanescente, aumentando a eficiência de enriquecimento com ^{13}C (AN *et al.*, 2015; BUTLER *et al.*, 2004). As câmaras foram abertas apenas quando a concentração de CO_2 atingiu 170 ppm. Além disso e, visando também, uma maior eficiência de enriquecimento com ^{13}C , na noite que sucedeu o enriquecimento, as câmaras foram mantidas fechadas para que o $^{13}\text{CO}_2$ liberado no processo de respiração noturna fosse incorporado pela fotossíntese nas primeiras horas do dia seguinte (KONG; SIX, 2010).

O enriquecimento foi conduzido até o florescimento da ervilhaca e enchimento de grãos da aveia, quando foi realizado o corte das plantas. Seis cilindros de solo de cada espécie vegetal foram removidos de cada caixa, sendo que três destes cilindros foram utilizados para avaliação do sistema radicular (massa de raízes e rizodeposição) e da biomassa aérea das culturas e os outros três cilindros foram analisados quanto aos teores de ^{13}C e razão isotópica $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ no solo inteiro.

2.4 Quantificação da biomassa aérea e das raízes e sua caracterização

A biomassa aérea foi separada em colmo/hastes e folhas, secas em estufa (40 °C até peso constante) e quantificadas em relação a sua massa. Para a avaliação de raízes, as colunas de solo foram estratificadas nas camadas de 0-5, 5-10, 10-20 e 20-30 cm, e realizada em duas etapas. Inicialmente, em cada camada, o solo foi destorroado e separadas as raízes grandes com solo aderido, as quais foram dispostas em frasco de vidro com água em uma proporção de 1:1,25 (solo:água) e agitadas em agitador horizontal por 20 min a 125 rpm (HIRTE *et al.*, 2018c). Na sequência, as raízes remanescentes no solo foram separadas do solo com auxílio de jato de água, as quais foram retidas em peneiras de malha de 2 e 0,5 mm. As raízes foram secas (40 °C até peso constante) e quantificadas em relação a sua massa.

Subamostras de raízes de cada camada de solo, e das folhas, haste/colmo e panícula das plantas de cobertura foram moídas e analisadas quanto aos teores de C, N e a razão isotópica $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ (referencia). As raízes e biomassa aérea também foram analisados quanto aos teores de celulose, hemicelulose e lignina (Van Soest, 1963). No caso da biomassa aérea, as análises foram realizadas em amostras compostas (n=3) pelos componentes nas suas respectivas proporções (41:53:6 de folha, haste/colmo e panícula no caso da aveia, e 30:70 de folhas e hastes no caso da ervilhaca, respectivamente). Da mesma forma, as amostras de raízes das três repetições foram constituídas de uma amostra composta para as camadas de 0-5, 5-10, 10-20, 20-30 cm.

Em seis colunas de solo cultivadas com aveia e ervilhaca foi estratificada nas camadas de 0-5, 5-10, 10-20 e 20-30 cm, e posteriormente, o solo foi fracionado manualmente nos pontos de fraqueza, e passado em peneira de 10 mm e seco ao ar. As frações da massa de solo maior e menor do que 2 mm foram quantificadas e utilizadas a fim de compor amostras representativas do solo inteiro para o fracionamento densimétrico da MO (VELOSO; CECAGNO; BAYER, 2019). Uma subamostra de solo foi moída em gral de ágata e analisada quanto ao teor de C e razão isotópica $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$. Esse C quantificado logo após o cultivo das plantas foi considerado oriundo da rizodeposição remanescente.

2.5 Experimento com biomassa aérea e raízes enriquecidas e não enriquecidas pareadas para rastreamento do ^{13}C

As colunas de solo (contendo as raízes da aveia e ervilhaca) foram retiradas da câmara de enriquecimento e colocadas em uma caixa de madeira em condições do ambiente (Figura 1). Foi preenchido com areia os espaços vazios entre as colunas de solo, com a finalidade de evitar a incidência direta do solo e, conseqüentemente o aquecimento do solo. Os resíduos vegetais da biomassa aérea da aveia e ervilhaca das plantas enriquecidas (^{13}C) e não enriquecidas (^{12}C) foram adicionadas na superfície das colunas de solo, de forma combinada, considerando a razão isotópica das raízes presentes na coluna de solo, compondo quatro tratamentos, conforme a seguir:

- (i) ^{12}C -biomassa aérea de aveia + ^{13}C -biomassa raízes de aveia
- (ii) ^{13}C -biomassa aérea de aveia + ^{12}C -biomassa raízes de aveia
- (iii) ^{12}C -biomassa aérea de ervilhaca + ^{13}C -biomassa raízes de ervilhaca
- (iv) ^{13}C -biomassa aérea de ervilhaca + ^{12}C -biomassa raízes de ervilhaca

A biomassa aérea de aveia e ervilhaca, reconstituídas a partir das folhas, colmo/haste e panículas nas suas respectivas proporções, foi aplicada na superfície das colunas de solo numa taxa equivalente a 958 g m^{-2} ($34,5 \text{ g coluna}^{-1}$), a qual correspondeu à adição de $390,5$ e $370,3 \text{ g m}^{-2}$ de C pela biomassa aérea de aveia e ervilhaca, respectivamente. Foi mantida a relação biomassa aérea e

raízes das plantas cultivadas em casa de vegetação (3,9 para aveia e 5,1 para ervilhaca).

2.6 Incubação, preparo das amostras e fracionamento da MO do solo

Após 10 e 21 meses da instalação do experimento pareado, doze colunas de solo cultivados com aveia ervilhaca foram avaliadas. A biomassa aérea presente na superfície do solo no momento da coleta foi retirada, lavada em água corrente e quantificado a massa seca e os teores de C, N e razão isotópica $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ como descrito no item 2.7 e 2.8. O solo foi seccionado nas camadas de 0-5, 5-10, 10-20 e 20-30 cm e, posteriormente, o solo foi fracionado manualmente nos pontos de fraqueza, e passado em peneira de 10 mm e seco ao ar. As frações da massa de solo maior e menor do que 2 mm foram quantificadas e utilizadas a fim de compor amostras representativas do solo inteiro para o fracionamento densimétrico da MO (VELOSO; CECAGNO; BAYER, 2019). Uma subamostra de solo foi moída em gral de ágata e analisada quanto ao teor de C e razão isotópica $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$.

O fracionamento físico granulométrico-densimétrico da MO do solo foi realizado somente nas camadas de 0-5 e 5-10 cm, no qual foi obtida três frações da MO do solo: MO inter-agregados, MO intra-agregados e MO associada aos minerais. Brevemente, 10 g de solo foi adicionado a tubo Falcon contendo 40 mL de solução de politungstato de sódio (PTS) na densidade de $2,0 \text{ g cm}^{-3}$, agitadas manual e lentamente 5 vezes (hand off-over). A suspensão foi centrifugada a 2.000 g durante 90 min e o sobrenadante que continha a fração da MO inter-agregados, foi filtrado sob vácuo. Para remover o excesso de PTS, a MO inter-agregados foi lavada com 200 mL de água destilada. A solução PTS (contida no sobrenadante da MO inter-agregados foi devolvida ao tubo e a suspensão foi submetida à dispersão por vibração ultrassônica com uma energia de 240 J mL^{-1} previamente calibrada (INDA JUNIOR *et al.*, 2007) visando dispersar microagregados nas frações individuais de areia, silte e argila e liberar a fração da MO intra-agregados. Após a dispersão da amostra, a suspensão foi centrifugada novamente e a MO intra-agregados presente no sobrenadante foi separada por filtração sob vácuo de forma similar à MO inter-agregados. Na

sequência, o solo remanescente no tubo foi passado em peneira de 53 μm para a recuperação da fração da MO intra-agregados residual (remanescente na fração pesada que é retida na peneira de 53 μm). Finalmente, a fração que passou pela malha de 53 μm , que consiste numa fração da MO associada aos minerais das frações granulométricas silte e argila, foi floculada com 10 mL de solução de CaCl_2 1 mol L^{-1} e, após decantação por algumas horas, o sobrenadante praticamente sem material em suspensão foi removido, sendo o restante do líquido evaporado em estufa. As frações da MO do solo foram secas em estufa a 50°C até massa constante, moídas em almofariz de ágata, quantificadas em relação a sua massa, e analisadas quanto aos teores de C e razão isotópica $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$.

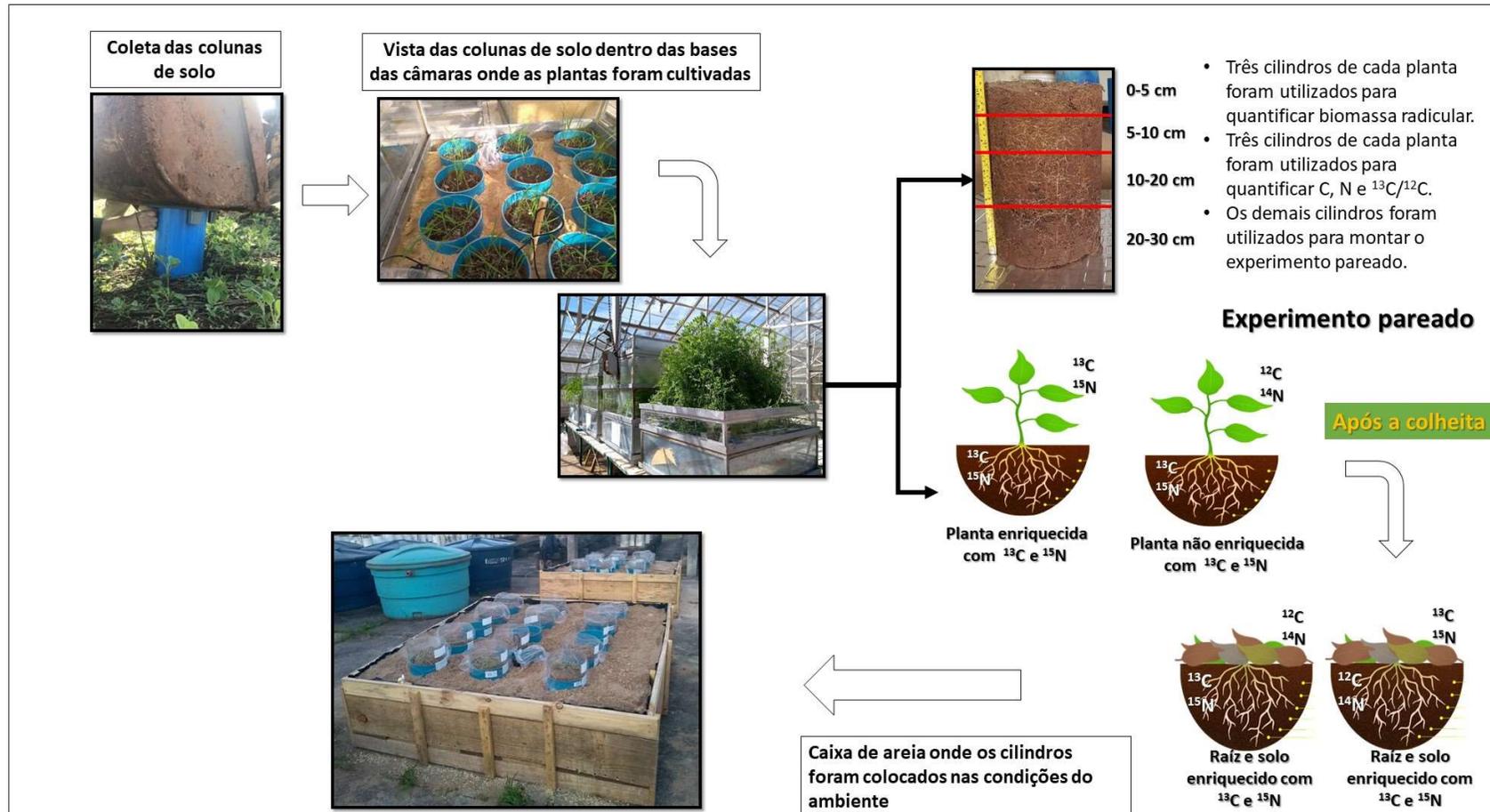


Figura 1. Representação esquemática da coleta das colunas do solo, cultivo das plantas em casa de vegetação e instalação do experimento pareado.

2.7 Determinação dos teores de carbono e da razão isotópica $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$

O C orgânico foi determinado por combustão seca em analisador CN (Flash 2000 IRMS, Thermo Fisher Scientific). Na sequência dessa análise, a razão isotópica $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ foi determinada em espectrômetro de massa de razão isotópica (DELTA V Advantage, Thermo Fisher Scientific) acoplado ao analisador de C. Os valores de enriquecimento foram expressos relativo ao padrão internacional Vienna-Pee Dee Belemnite (V-PDB) e calculados por meio das seguintes equações (LU; WATANABE; KIMURA, 2002):

$$\delta^{13}\text{C} \text{ ‰} = (R \text{ amostra} - R \text{ PDB}) \times \left(\frac{1000}{R \text{ PDB}} \right) \quad \text{Eq. 1}$$

$$^{13}\text{C} \text{ (átomo ‰)} = 100 \times \frac{[(\delta^{13}\text{C} + 1000) \times R \text{ PDB}]}{[(\delta^{13}\text{C} + 1000) \times R \text{ PDB} + 1]} \quad \text{Eq. 2}$$

Onde: $R \text{ amostra}$ é a razão $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ na amostra; R-PDB é igual a 0,011179 (V-PDB),

2.8 Cálculos – Carbono acumulado no solo e eficiência de estabilização no solo do C derivado da biomassa aérea e das raízes

O C acumulado ao solo no momento do corte das plantas (C da rizodeposição remanescente), e aos 10 e 21 meses após a adição do resíduo vegetal da biomassa aérea da aveia e ervilhaca, nas camadas de 0-5, 5-10, 10-20, 20-30 cm foi calculado pela multiplicação do C orgânico do solo (g m^{-2}) pela proporção entre o $\delta^{13}\text{C}$ do solo e o $\delta^{13}\text{C}$ da raiz ou biomassa aérea (f), calculada conforme as equações 3 e 4, tendo sido utilizados os valores médios de $\delta^{13}\text{C}$ da abundância natural do solo e da biomassa aérea e raízes não enriquecidas ($n=3$).

$$C \text{ acumulado no solo (g m}^{-2}\text{)} = \text{COS (g m}^{-2}\text{)} \times f$$

Eq. 3

$$f = \frac{\delta^{13}\text{C solo} - \delta^{13}\text{C abundância natural do solo}}{\delta^{13}\text{C raiz ou PA enriquecida} - \delta^{13}\text{C raiz ou PA não enriquecida}}$$

Eq. 4

Onde: COS é o carbono orgânico do solo; f é a proporção do C derivado dos resíduos; PA é a parte aérea.

A eficiência de acúmulo de C derivado das raízes e biomassa aérea foi calculada para a camada de 0-30 cm solo conforme a equação 5 (KONG; SIX, 2010).

$$\begin{aligned} & \text{Eficiência (\%)} \\ & = \frac{\sum^n C \text{ acumulado no solo}}{\sum^n C \text{ adicionado ao solo (raiz ou biomassa aérea)}} \times 100 \end{aligned}$$

Eq. 5

onde n é o número de camadas de solo (0-5, 5-10, 10-20 e 20-30 cm). O C da biomassa radicular foi calculado a partir da multiplicação da biomassa das raízes (g m^{-2}) e o respectivo teor de C (g g^{-1}). A quantidade de C adicionado pelas raízes considerou a biomassa das raízes e a rizodeposição. A quantidade de C aportado pela biomassa aérea consistiu no C adicionado ao solo no início do experimento descontado o C presente na biomassa aérea remanescente na superfície do solo após 10 e 21 meses da adição do resíduo vegetal.

2.9 Análise estatística

As variáveis quantitativas foram submetidas aos testes de Shapiro Wilk e Bartlett para confirmação dos pressupostos de distribuição normal e homogeneidade da variância, respectivamente. E a independência dos resíduos foi feita a partir da avaliação gráfica e, quando necessário realizada a transformação adequada. A análise de variância (ANOVA) foi aplicada seguindo os preceitos de delineamento completamente casualizado bifatorial, na qual se avaliou o efeito do fator 1 que foi a planta (gramíneas e leguminosas) e do fator 2 que foi a origem do C (biomassa aérea e raízes), bem como a interação entre ambos. A análise foi realizada no ambiente R (RSTUDIO, 2016) por meio do pacote ExpDes (FERREIRA; CAVALCANTI; NOGUEIRA, 2021).

3. Resultados

3.1 Assinatura isotópica, recuperação e distribuição do C entre biomassa aérea, raízes e rizodeposição

O enriquecimento com $\delta^{13}\text{C}$ da biomassa aérea das plantas de cobertura foi maior na aveia preta (956‰) do que na ervilhaca (645‰) (Figura 2a), com destaque para as folhas no caso da aveia e das hastes no caso da ervilhaca os quais tiveram a maior assinatura isotópica (Figura 2a). O $\delta^{13}\text{C}$ das raízes variou de ± 824 a ± 455 ‰, o qual foi maior para aveia e foi semelhante entre as camadas de solo (Figura 2b).

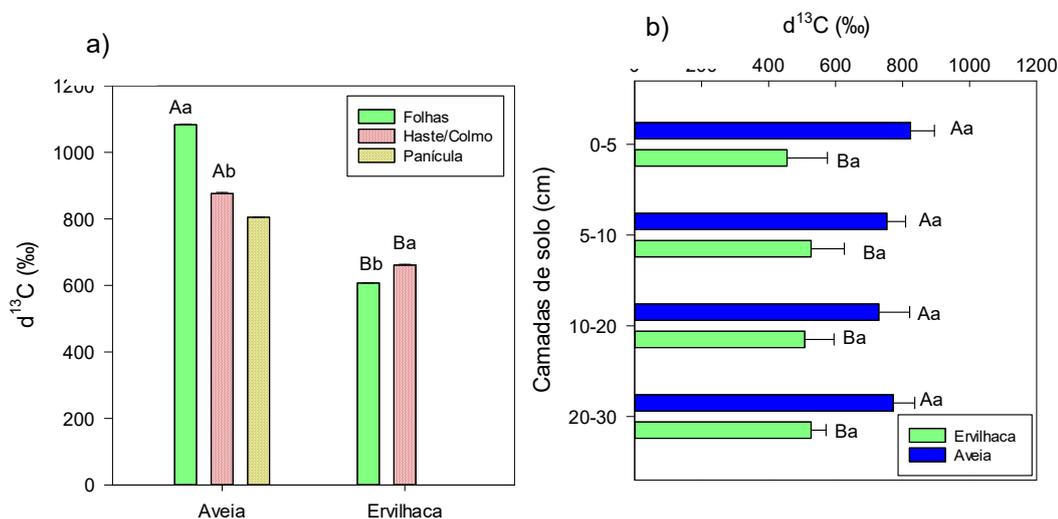


Figura 2. a) $\delta^{13}\text{C}$ das folhas, Colmo, panicula da aveia e folhas e haste da ervilhaca enriquecidas em sistema de pulsos de $^{13}\text{CO}_2$. b) $\delta^{13}\text{C}$ das raízes. Letras maiúsculas comparam planta (aveia e ervilhaca) e letras minúsculas comparam parte das plantas. O delineamento foi em parcelas ao acaso em esquema bifatorial, em que o primeiro fator é a planta (aveia e ervilhaca) e o segundo fator as partes das plantas (a) ou camadas de solo (b). As médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

A recuperação total do ^{13}C da biomassa aérea, raízes e rizodeposição foi semelhante para aveia e ervilhaca, em média, 45% (Tabela 5). A distribuição do aporte de C total, em média, foi de 72, 18 e 10%, respectivamente, para biomassa aérea, raízes e rizodeposição (Tabela 5), indicando uma forte alocação do C fotossintetizado para a biomassa aérea das plantas de cobertura, e distribuindo o restante de forma quase proporcional entre a biomassa radicular e a rizodeposição remanescente (Tabela 5). O C total do sistema radicular aportado ao solo, o qual

contempla o C presente na massa de raízes e mais o C de rizodeposição remanescente, representou, em média, 29% do total de C fotossintetizado pela aveia e ervilhaca (Tabela 5). O C remanescente da rizodeposição da ervilhaca foi maior e, representou 43% do C total aportado pelas raízes (massa+rizodeposição), enquanto na aveia representou uma proporção um pouco inferior, 33% (Tabela 5).

Tabela 5. Recuperação de ^{13}C e distribuição do C fotossintetizado pela aveia e ervilhaca sob enriquecimento com pulsos de $^{13}\text{CO}_2$.

Origem do carbono	Aveia		Ervilhaca	
	Recuperação (%)	^{13}C	Distribuição C total (%)	
Biomassa aérea	38 Aa*	32 Aa	72 Aa	71 Aa
Massa de raiz	8 Ab	6 Ab	19 Ab	17 Bb
Solo	3 Ac	4 Ab	9 Bc	12 Ac
Soma	49 A	41 A	100	100

*Letras maiúsculas comparam planta (aveia e ervilhaca) e letras minúsculas comparam a origem do carbono. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

A maior quantidade de C adicionado por rizodeposição, tanto para aveia como para a ervilhaca, ocorreu na camada superficial do solo (0-5 cm), reduzindo gradativamente em profundidade, até atingir a menor deposição na camada mais profunda (20-30 cm) (Figura 3). Na camada de 0-5 cm, o C da biomassa radicular da aveia foi 12% ($6,3 \text{ C m}^{-2}$) maior do que da ervilhaca, sendo que esse efeito também ocorreu nas demais camadas de solo, embora com diferenças menos expressivas (Figura 3). O C adicionado pela biomassa radicular da aveia na camada 0-30 cm foi 13,7% ($12,3 \text{ g C m}^{-2}$) maior do que o adicionado pela ervilhaca (Figura 3).

O C adicionado via rizodeposição remanescente foi 35% ($17,3 \text{ g C m}^{-2}$) maior quando do cultivo de ervilhaca do que de aveia na camada de 0-30 cm (Figura 3). Contudo, o C total oriundo das raízes (massa+rizodeposição remanescente) adicionado ao solo (0-30 cm) foi semelhante entre a aveia e ervilhaca, em média, 154 g C m^{-2} .

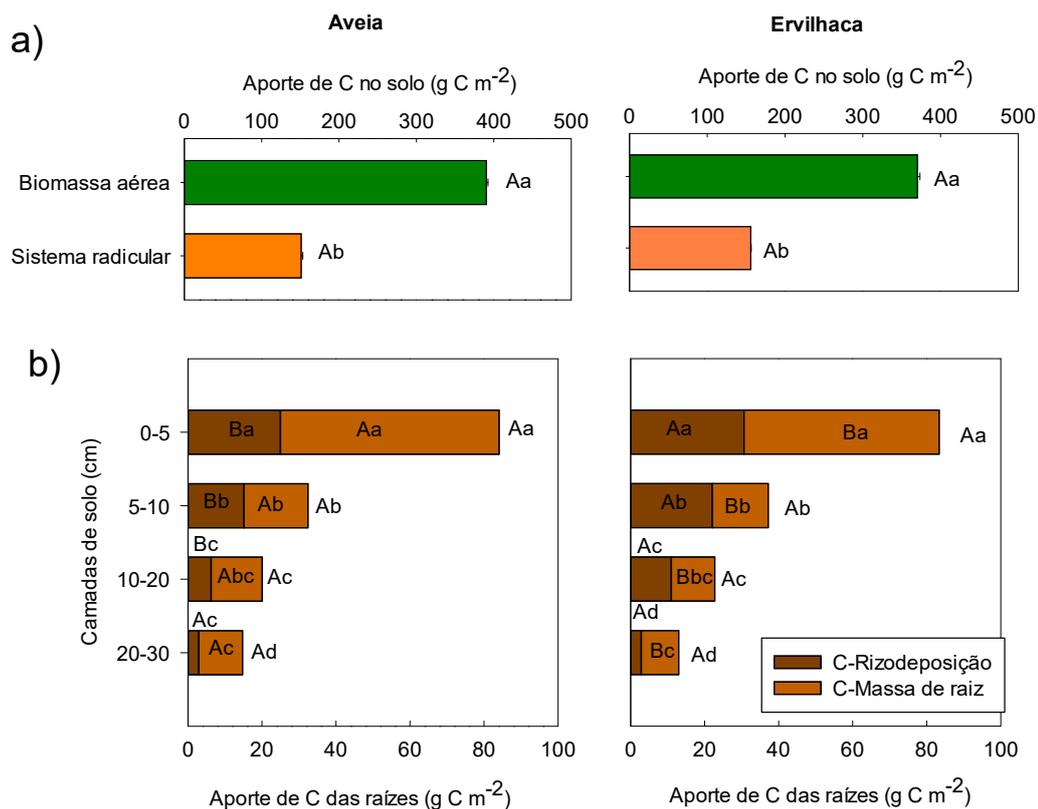


Figura 3. a) C derivado da aveia e ervilhaca via biomassa aérea e sistema radicular. b) C da rizodeposição remanescente adicionado em cada camada de solo via aveia e ervilhaca até o período da colheita. As letras maiúsculas comparam plantas e letras minúsculas comparam as camadas de solo dentro de cada fonte de C (C-Rizodeposição e C-Massa de raiz).

3.2 Características bioquímicas da biomassa aérea e raízes das plantas de cobertura

Em média, a aveia apresentou 281 e 271 g kg⁻¹ de celulose e hemicelulose, sendo esses valores 19 e 34% superiores aos da ervilhaca, respectivamente (Tabela 6). Por sua vez, ervilhaca se destacou quanto a fração solúvel e lignina (375 e 221 g kg⁻¹), com teores 18 e 36% maiores do que a aveia (306 e 142 g kg⁻¹), respectivamente (Tabela 6). A biomassa aérea da aveia e ervilhaca apresentou maior teor de fração solúvel (33%) e o dobro de celulose em relação as raízes (Tabela 6). A razão C/N da biomassa aérea da aveia foi 3,3 vezes maior do que da ervilhaca (Tabela 6). A razão lignina/N foi semelhante entre a biomassa aérea da aveia e ervilhaca, mas foi aproximadamente 3 vezes maior nas raízes do que na biomassa aérea (Tabela 6).

Tabela 6. Composição bioquímica da biomassa aérea e das raízes da aveia e ervilhaca após cultivo em casa de vegetação.

Planta	Origem do C	Fração solúvel	Hemicelulose	Lignina	Celulose	Lig:N	C/N
			g kg ⁻¹				
	Biomassa						
Aveia	aérea	364	230	50	357	7	53
Aveia	Raiz	249	312	234	205	13	19
	Biomassa						
Ervilhaca	aérea	413	167	99	321	4	16
Ervilhaca	Raiz	336	188	344	133	16	15
<i>p</i> valor	Planta	0,001	<0,001	0,001	0,002	0,946	0,001
	Fonte	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	0,002
	Planta x Fonte	0,070	0,001	0,028	0,073	0,021	0,002

As médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

3.3 C e N das plantas de cobertura remanescente na superfície do solo

A perda de C e N da biomassa aérea depositada na superfície do solo foi maior no caso da ervilhaca do que da aveia (Figura 4). O C da aveia e ervilhaca depositado na superfície do solo reduziu de 390 para 122 g C m⁻² e 370 a 25 g C m⁻² após 10 meses da adição dos resíduos vegetais da biomassa aérea, respectivamente. E o N da aveia e ervilhaca presente na biomassa aérea na superfície do solo reduziu de 7 para 3 g m⁻² e de 24 para 1 g m⁻² nesse mesmo período, respectivamente. Do 10^o ao 21^o mês, as perdas de C e N presentes na biomassa aérea da ervilhaca foram muito baixas, enquanto na biomassa da aveia ainda houve uma redução de 93 g C m⁻² e 2 g N m⁻² (Figura 4).

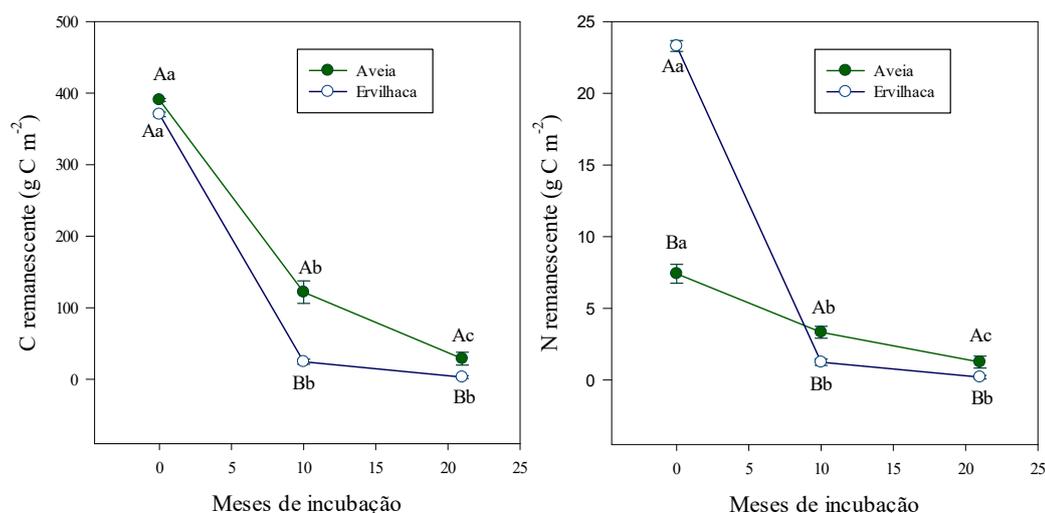


Figura 4. Carbono e nitrogênio remanescente no resíduo da biomassa aérea vegetal presente na superfície do solo aos 0, 10 e 21 meses de incubação à campo. As letras maiúsculas comparam plantas (aveia e ervilhaca) e letras minúsculas comparam o tempo de incubação. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

3.4 Acúmulo no solo do C derivado da biomassa aérea e das raízes

Após 10 meses da adição dos resíduos vegetais da biomassa aérea, o C derivado das plantas de cobertura acumulado nas diferentes camadas de solo variou de 1,1 a 64,9 g C m⁻² (Tabela 7). Considerando o perfil de solo (0-30 cm), em média, 70% do C derivado das plantas de cobertura (biomassa aérea + raízes) acumulou na camada superficial (0-5 cm) do solo, e foi influenciado pela origem do C (biomassa aérea x raiz) e pela planta de cobertura (Tabela 7). Nessa camada superficial do solo, a maior parte do C acumulado foi derivado da biomassa aérea (Tabela 7), tendo sido acumulado quase o dobro de C derivado do resíduo de ervilhaca do que de aveia (Tabela 3). O acúmulo de C derivado das raízes de aveia (22,6 g C m⁻²) foi superior ao acumulado da ervilhaca (16,5 g C m⁻²) [$p < 0,001$] e representou, respectivamente, 38 e 20% de todo o acúmulo total de C (biomassa aérea+raízes) nessa camada superficial do solo (Tabela 7)

As raízes (biomassa radicular + rizodeposição) tenderam a contribuir mais para o acúmulo de C nas camadas de solo mais profundas (10-20 e 20-30 cm), com destaque para a aveia em relação a ervilhaca (Tabela 7). Na camada de 20-30 cm, o C derivado das raízes de aveia acumulado no

solo foi 5 vezes maior do que da ervilhaca (7,4 vs 1,5 g C m⁻²) (Tabela 7). Na camada de 5-10 cm, não foram verificadas diferenças entre plantas e origem de C (p=0,08; Tabela 7). No perfil do solo (0-30 cm), o C derivado das raízes da aveia acumulado no solo foi 57% maior do que da ervilhaca (Tabela 7).

Considerando o perfil do solo (0-30 cm), o C derivado da aveia (biomassa aérea+raízes) teve um acúmulo de 18% menor do que a ervilhaca e apresentou valores totais de 85,0 g C m⁻² e 100,9 g C m⁻² aos 10 meses de incubação, respectivamente (Tabela 7). O comportamento do C derivado das raízes e da biomassa aérea das plantas de cobertura foi distinto (Tabela 7). As raízes da aveia contribuíram mais para o acúmulo de C (42,7 g C m⁻²) do que as raízes de ervilhaca (27,2 g C m⁻²) e, a biomassa aérea, o comportamento foi inverso, o acúmulo de C da ervilhaca foi 74% maior do que da aveia aos 10 meses de incubação (73,7 vs. 42,3 g C m⁻²) (Tabela 7).

Após 21 meses da adição dos resíduos vegetais da biomassa aérea, o C derivado da aveia e ervilhaca acumulado nas diferentes camadas de solo variou de 0,9 a 42,3 g C m⁻² (Tabela 7). O C derivado da aveia (biomassa aérea+raízes) acumulado no solo foi maior do que da ervilhaca tanto na camada de 0-5 cm (60,0 vs 45,2 g C m⁻²) como no perfil do solo de 0-30 cm (81,3 vs 62,2 g C m⁻²) (Tabela 7). Nessas camadas, a predominância do C acumulado da biomassa aérea também teve destaque, o qual representou 70 e 85% do C total acumulado na camada de 0-5 cm e 64 e 78% do C acumulado na camada de 0-30 cm, respectivamente, para a aveia e ervilhaca (Tabela 7). Enquanto, o C derivado da biomassa aérea da aveia e ervilhaca foram similares (42,3 e 38,8 g C m⁻² de 0-5 cm e 52,3 e 48,3 g C m⁻² de 0-30 cm, respectivamente), as raízes da aveia contribuíram mais para o acúmulo de C (3,8 g C m⁻² de 20-30 cm e 29,0 g C m⁻² de 0-30 cm) do que da ervilhaca (1,0 g C m⁻² de 20-30 cm e 13,9 g C m⁻² de 0-30 cm) (Tabela 7).

Tabela 7. C derivado da biomassa aérea e das raízes da aveia e ervilhaca após 10 e 21 meses de incubação á campo.

Planta	Origem do C	C derivado das plantas (g C m ⁻²)				
		Camadas de solo (cm)				
		0-5	5-10	10-20	20-30	0-30
		10 meses após a colheita				
Aveia	Biomassa Aérea	35,5	2,8	3,0	1,1	42,3
	Raiz	22,6	5,8	6,9	7,4	42,7
Ervilhaca	Biomassa Aérea	64,9	3,9	3,4	1,5	73,7
	Raiz	16,5	5,0	4,2	1,5	27,2
p valor	Planta	< 0,001	0,862	0,138	0,002	0,009
	Fonte	< 0,001	0,080	0,009	0,001	<
	Planta x Fonte	< 0,001	0,366	0,062	< 0,001	<
		21 meses após a colheita				
Aveia	Biomassa Aérea	42,3	4,6	3,5	1,8	52,3
	Raiz	17,7	3,5	4,0	3,8	29,0
Ervilhaca	Biomassa Aérea	38,8	2,5	4,1	2,8	48,3
	Raiz	6,3	2,5	4,0	1,0	13,9
p valor	Planta	0,007	0,371	0,656	0,062	0,007
	Fonte	< 0,001	0,250	0,575	0,817	<
	Planta x Fonte	0,091	0,951	0,249	0,002	0,034

O delineamento foi em parcelas ao acaso em esquema bifatorial, em que o primeiro fator foi a planta (aveia e ervilhaca) e o segundo a Fonte do C (biomassa aérea vs. Raízes). As médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

3.5 Eficiência de estabilização no solo do C derivado da biomassa aérea e das raízes

Após 10 meses da adição dos resíduos vegetais da biomassa aérea, a eficiência de estabilização do C derivado das raízes (23%) foi superior do que da biomassa aérea (19%; $p = 0,022$). Ao considerar a biomassa aérea e raízes conjuntamente, as plantas de cobertura apresentaram eficiência similar de estabilização do C no solo, a qual foi de aproximadamente 20% (Figura 5a). Contudo, algumas especificidades foram verificadas, a biomassa aérea da ervilhaca (21%) teve uma maior eficiência de estabilização do C em relação a aveia (16%) (Figura 5a). No caso das raízes, esse comportamento se inverteu, o C derivado das raízes da aveia teve uma maior eficiência em estabilizar o C no solo (28%) do que das raízes da ervilhaca (17%). As raízes da aveia tiveram uma eficiência de estabilização do C de 80% maior do que o C derivado pela biomassa aérea (Figura 5a). No caso da ervilhaca, as raízes e biomassa aérea não se diferenciaram quanto a eficiência de estabilização do C no solo (Figura 5a).

Após 21 meses da adição dos resíduos vegetais da biomassa aérea, a eficiência de estabilização do C aportado foi inferior do que aos 10 meses (Figura 5b) mas os resultados mantiveram um comportamento similar com maior eficiência das raízes da aveia (19%) em relação a biomassa aérea (14%) e no caso da ervilhaca o oposto, com maior eficiência da biomassa aérea (13%) do que das raízes (9%). Embora essa similaridade no comportamento dos resultados, aos 21 meses a aveia se mostrou superior a ervilhaca quando considerada biomassa+raízes (16% vs. 12%) (Figura 3b).

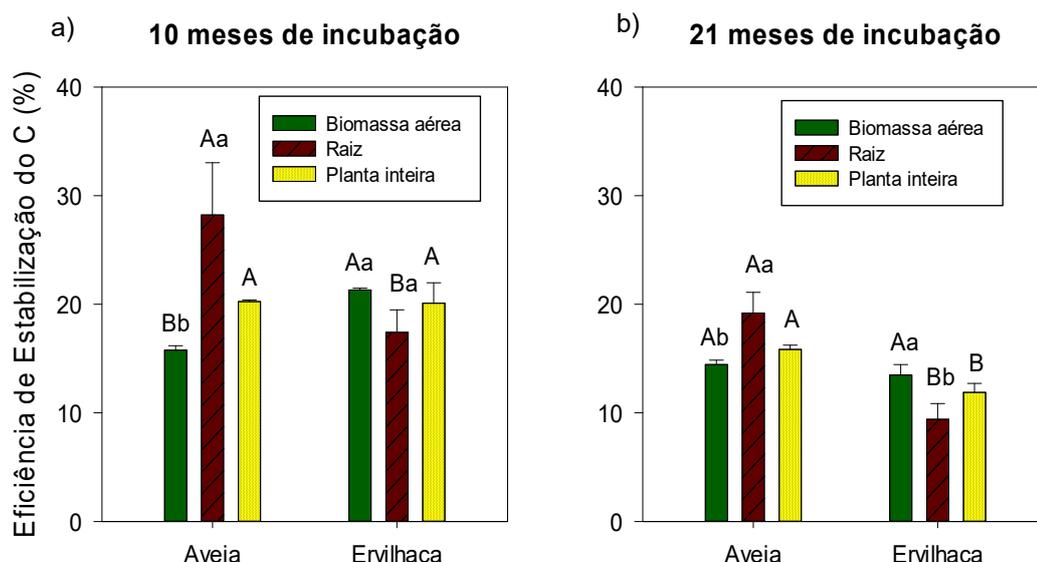


Figura 5. Eficiência de estabilização do C derivado da biomassa aérea e das raízes (0-30 cm) aos 10 e 21 meses de incubação a campo. As letras maiúsculas comparam os fatores que estão no eixo x do gráfico (aveia e ervilhaca) e letras minúsculas comparam o segundo fator (biomassa aérea e raízes). As médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

3.6 Acúmulo de C derivado das plantas de cobertura nas frações da MO do solo

O maior acúmulo proporcional de C derivado da biomassa aérea e das raízes das plantas de cobertura, de maneira geral, ocorreu na MO associada aos minerais (Figura 6). Após 10 meses da adição dos resíduos vegetais da biomassa aérea, de 28 a 55% (10,5 a 19,4 g m⁻²) do acúmulo de C no solo ocorreu na fração da MO associada aos minerais, e essa proporção ampliou para 44 a 70% (6,2 a 27,1 g m⁻²) na segunda coleta de solo, após 21 meses da adição dos resíduos vegetais da biomassa aérea (Figura 6).

Após 10 meses da adição dos resíduos vegetais da biomassa aérea, tanto a planta quanto a fonte do C influenciaram o acúmulo de C na MO associada aos minerais (Figura 6). Se no caso da biomassa aérea, o C derivado da ervilhaca acumulou na MO associada aos minerais 26% mais do que da aveia, no caso das raízes da aveia esse acúmulo foi 49% maior do que da ervilhaca (Figura 6). Após 21 meses da adição dos resíduos vegetais da biomassa aérea, o C aportado pela aveia (biomassa

aérea+raízes) teve um acúmulo de quase o dobro de C na MO associada aos minerais do que a ervilhaca, e a contribuição da biomassa aérea foi duas vezes maior do que das raízes (Tabela 6).

A segunda fração com maior acúmulo proporcional de C foi a MO inter-agregados, na qual representou 12 a 45% (3,4 a 31,0 g m⁻²) do acúmulo total de C aos 10 meses da adição dos resíduos vegetais e esta proporção reduziu para 7 a 24% (1,1 a 9,8 g m⁻²) aos 21 meses da adição dos resíduos vegetais (Figura 6; Tabela 7). O C derivado da biomassa aérea da ervilhaca contribuiu de forma expressiva para o acúmulo de C na MO inter-agregados, sendo 90% maior do que no caso da aveia (Figura 6). Aos 21 meses da adição dos resíduos vegetais, enquanto o C derivado da biomassa aérea acumulou preferencialmente na MO inter-agregados (43-45% aos 10 meses e 20-27%), o C aportado pelas raízes (massa+rizodeposição) acumulou preferencialmente na MO associada aos minerais (55-49% aos 10 meses e 69-70%) (Figura 6; Tabela 7).

O acúmulo proporcional de C na MO intra-agregados foi de menor magnitude, sendo maior para o C derivado da biomassa aérea do que das raízes, aos 10 e 21 meses da adição dos resíduos vegetais. Aos 10 meses da adição dos resíduos vegetais, o acúmulo de C nesta fração representou 33-35% (9,4 a 7,6 g m⁻²) do total de C acumulado no solo derivado das raízes, para a biomassa aérea esta proporção foi de 17-27% (6,5-18,4 g m⁻²). Aos 21 meses da adição dos resíduos vegetais, o C acumulado na MO intra-agregados representou 17-23% (1,6 a 4,8 g m⁻²) do C derivado das raízes acumulado no solo e 21-30% (9,8 a 12,3 g m⁻²) do C derivado da biomassa aérea acumulado no solo (Tabela 7). Enquanto o C aportado pela biomassa aérea da ervilhaca acumulou mais C na MO intra-agregados do que a aveia, o C aportado pelas raízes da aveia acumulou mais C na MO intra-agregados do que da ervilhaca, independente do tempo transcorrido – 10 e 21 meses (Figura 6; Tabela 7).

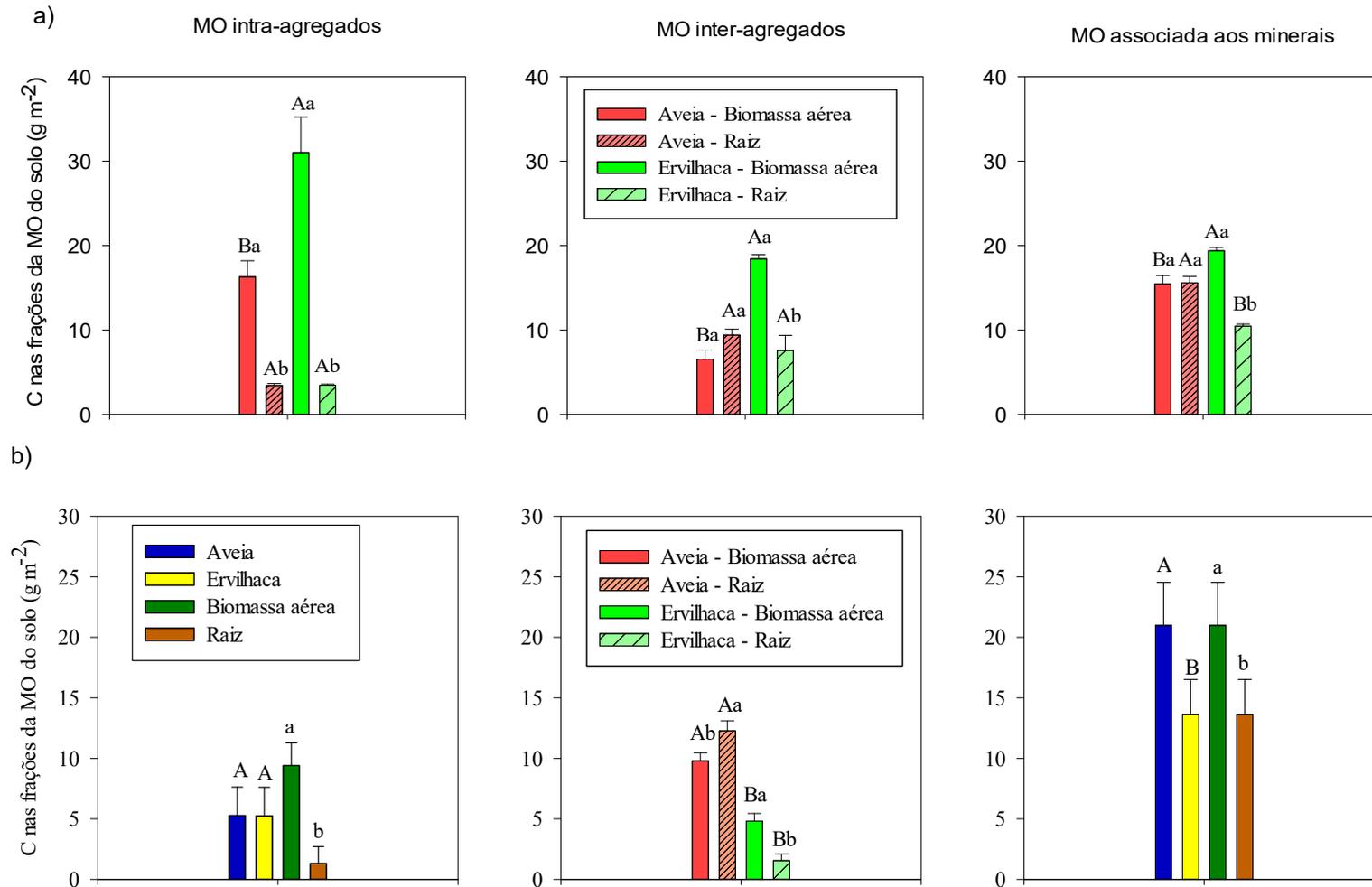


Figura 6. C derivado da biomassa aérea e das raízes da aveia e ervilhaca acumulado em frações físicas da MO do solo na camada de 0-10 cm, aos 10 (A) e 21(B) meses da adição dos resíduos vegetais. As letras maiúsculas comparam a planta (aveia e ervilhaca) e letras minúsculas comparam a fonte de C (biomassa aérea e raiz). As médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

4.0 Discussão

4.1 Enriquecimento das plantas e recuperação do ^{13}C no solo e planta

O enriquecimento com $\delta^{13}\text{C}$ da biomassa aérea da aveia (956 ‰) e ervilhaca (645 ‰) se enquadraram dentre os mais elevados obtidos em estudos de enriquecimento por pulsos de $^{13}\text{CO}_2$ (AUSTIN *et al.*, 2017; KONG; SIX, 2010; NORRIS *et al.*, 2012; PUGET; DRINKWATER, 2001; TAHIR *et al.*, 2018; WILLIAMS; MYROLD; BOTTOMLEY, 2006). O maior enriquecimento de $\delta^{13}\text{C}$ da aveia é suportado pela maior taxa fotossintética em relação à ervilhaca, consumindo mais $^{13}\text{CO}_2$ durante os eventos de enriquecimento (Apêndice). As folhas da aveia preta tiveram um maior nível de enriquecimento e isso pode ser relacionado à maior área superficial específica de suas folhas ao comparar com a ervilhaca o que aumenta a absorção do $^{13}\text{CO}_2$. O $\delta^{13}\text{C}$ das raízes oscilou entre 824 e 455‰ (Figura 2) e também foi superior ao $\delta^{13}\text{C}$ de raiz verificado na literatura que varia entre 60 e 495‰ (KONG; SIX, 2010; PUGET; DRINKWATER, 2001; TAHIR *et al.*, 2018).

A recuperação total média do ^{13}C na planta e solo foi de 45% (Tabela 5). O aproveitamento parcial do ^{13}C é atribuído à perda do ^{13}C assimilado na forma de CO_2 pela respiração da biomassa aérea e das raízes durante o crescimento da planta, a qual aumenta no estágio reprodutivo da cultura, principalmente devido à morte de raízes (YEVDOKIMOV *et al.*, 2006). Além disso, o C da rizodeposição é prontamente disponível à microbiota do solo e rapidamente metabolizado, podendo representar até 23% do total de efluxo de CO_2 no período de enriquecimento das plantas (YEVDOKIMOV *et al.*, 2006)). Contudo, a porcentagem de recuperação total do C desse estudo foi maior do que em outros estudos nos quais a recuperação variou entre 32,4 e 40,4 % (TAHIR *et al.*, 2018; WICHERN *et al.*, 2007), demonstrando que o sistema de enriquecimento de pulsos utilizado apresentou uma eficiência satisfatória no aproveitamento do ^{13}C .

4.2 Eficiência de estabilização do C derivado da biomassa aérea e das raízes de plantas de cobertura do solo

As raízes, de maneira geral, tiveram maior eficiência de estabilização do C na MO do solo aos 10 meses da adição dos resíduos vegetais (Figura 5). A maior eficiência de estabilização do C derivado das raízes confirmou a nossa hipótese inicial baseada nos resultados obtidos por outros autores em solos sob preparo convencional (KONG; SIX, 2010; PUGET; DRINKWATER, 2001) e em região de clima temperado (AUSTIN *et al.*, 2017). As raízes contribuem mais com o aporte de C nas camadas subsuperficiais do solo em relação a biomassa aérea (Tabela 7), onde tem maior déficit de saturação do C (RODRIGUES *et al.*, 2021) e menor abundância de microrganismos edáficos ao comparar com as camadas superficiais. A menor abundância de microrganismo pode reduzir a decomposição da biomassa radicular (aumento da MO intra-agregados) e o maior déficit de saturação pode favorecer a associação organo-mineral, principalmente do C da rizodeposição. Isso porque, os compostos lábeis em solos com maior déficit de saturação tendem a formar mais MO associada aos minerais (SOKOL *et al.*, 2019; COTRUFO *et al.*, 2022). Portanto, o maior aporte de C derivado das raízes, nas camadas subsuperfícies do solo, pode ter conduzido a maior eficiência de estabilização do C recém adicionado no solo (Figura 5).

A maior eficiência de estabilização do C pode, também, estar relacionada com a proteção física do C derivado das raízes em agregados que é iniciada desde o início do crescimento das raízes (DENEFF; SIX, 2006). As raízes enovelam as partículas de solo e microagregados, formando os macroagregados (TISDALL; OADES, 1982b). O que proporciona a liberação dos rizodepósitos dentro dos agregados de solo, favorecendo a proteção física desses compostos orgânicos (DENEFF; SIX, 2006).

Pesquisas recentes sugerem que os produtos microbianos derivados da rizodeposição são estabilizados na MO associada aos minerais de forma mais eficiente em comparação com os produtos microbianos derivados da biomassa aérea e radicular (SOKOL *et al.*, 2019; SOKOL; SANDERMAN; BRADFORD, 2019). Isso porque, a formação de MO associada aos minerais através de processos de anabolismo microbiano (*in vivo*) é mais proeminente em ecossistemas onde há maior produção de C lábil (ou seja, substratos de alta produção de energia) como na rizosfera (COTRUFO; LAVALLEE, 2022). Portanto, as raízes contribuem para a estabilização do C no solo principalmente

por meio da rizodeposição, C este que em torno de 62% é acumulado na fração da MO associada aos minerais (Apêndice).

Além do C da rizodeposição remanescente que já estava incorporado na MO do solo, foi mantido no solo o C da biomassa radicular que equivale a 1,7 vezes a mais em relação ao C da rizodeposição (Figura 3b). Contudo, entre a primeira coleta (C da rizodeposição) e o 10º mês da adição dos resíduos vegetais, o C derivado do sistema radicular (biomassa radicular + rizodeposição) da aveia e ervilhaca diminuiu de 49 para 43 g m⁻² e 67 para 27 g m⁻² para aveia e ervilhaca, respectivamente (Figura 3 e Tabela 7). Esse resultado sugere que a maior eficiência da estabilização das raízes aos 10 meses da adição dos resíduos vegetais pode ser um efeito residual da contribuição expressiva da rizodeposição, o que é suportado pelos resultados de FOSSUM *et al.* (2022) e SOKOL *et al.* (2019), os quais o C derivado das raízes vivas (rizodeposição) tiveram maior eficiência em formar MO associada aos minerais do solo em relação ao C derivado da biomassa radicular e aérea. Contudo, o nosso desenho experimental não permitiu avaliar separadamente a eficiência de estabilização no solo do C derivado da biomassa radicular e da rizodeposição.

Os resultados confirmaram a nossa expectativa da maior eficiência de estabilização do C derivado das raízes da aveia em relação à ervilhaca (Figura 5). A quantidade total de C aportados pelas raízes da aveia e ervilhaca no solo, que consiste na somatória do C da biomassa radicular e da rizodeposição remanescente, foram semelhantes (Figura 3). Contudo, a aveia aportou mais C nas camadas do solo de 10-20 e 20-30 cm e produziu 12% a mais de C da biomassa radicular (Figura 3b; Tabela 7), o que confirmou a nossa expectativa, pois a aveia apresentou a maior biomassa radicular, principalmente nas camadas mais profundas, em comparação à ervilhaca (BURR-HERSEY *et al.*, 2017). E tende a ocupar um maior volume de solo. O sistema radicular fasciculado da aveia pode ter contribuído para eficiência de estabilização do C das raízes aos 10 meses da adição dos resíduos vegetais, por otimizar a capacidade de proteger o C derivado das raízes da aveia em agregados estáveis, contribuindo para a estabilização do C derivado das raízes da aveia na fração da MO intra-agregados, mesmo aos 21 meses da adição dos resíduos vegetais (Figura 6). Esses resultados confirmam que o uso de plantas com

sistema radicular fasciculado e profundo é uma boa estratégia para aumentar o acúmulo de C no solo.

Ao contrário do C das raízes, o C derivado da biomassa aérea é adicionado via superfície do solo e não apresenta nenhuma proteção física prévia. A entrada de C derivado da biomassa aérea no solo ocorre inicialmente via CO dissolvido (COD) e, na sequência a transferência física dos componentes estruturais como lignina e hemicelulose (COTRUFO *et al.*, 2015). Os compostos solúveis, principalmente os ricos em N, podem contribuir para a formação de associações organo-minerais ou organo-orgânica (co-precipitação) que compõem a fração da MO associada aos minerais (POSSINGER *et al.*, 2020; VIDAL *et al.*, 2018; VOGEL *et al.*, 2014; WITZGALL *et al.*, 2021). A formação de associações organo-mineral pode explicar o maior acúmulo de C no solo e eficiência de estabilização do C derivado da biomassa aérea da ervilhaca (74 g C m⁻²; 21%) em relação à aveia (42 g C m⁻²; 16%), aos 10 meses da adição dos resíduos vegetais (Tabela 7, Figura 5).

Associado a isso, o maior teor de N pode aumentar a produção de metabólitos microbianos (COTRUFO *et al.*, 2013, 2015), promover uma maior eficiência do metabolismo microbiano dos compostos orgânicos adicionados ao solo, e, por sua vez, levar à maiores taxas de estabilização de C nos solos e, de forma mais expressiva na fração da MO associada aos minerais (KALLENBACH *et al.*, 2015; VELOSO *et al.*, 2020). Como confirmado no nosso estudo, a biomassa aérea da ervilhaca teve ~ 25% (3,9 g C m⁻²) a mais de C estabilizado na fração da MO associada aos minerais do solo em relação a aveia, aos 10 meses da adição dos resíduos vegetais (Figura 6).

A transferência de C e N da biomassa aérea da ervilhaca para o solo é mais rápida. Aos 10 meses da adição dos resíduos vegetais, foi de 93 e 95%, enquanto, da aveia foi de 69 e 55%, respectivamente (Figura 4). Resultado semelhante foi verificado por SCHMATZ *et al.* (2020) que após um ano, a biomassa aérea da ervilhaca perdeu 96 e 98% de C e N, respectivamente e, do trigo (menor qualidade) foi de 84 e 64% de N, independentemente da quantidade inicial aportada. Essas evidências indicam que além dos compostos orgânicos solúveis, a transferência física dos compostos orgânicos estruturais da ervilhaca ocorrem de forma mais intensa, ao comparar com a aveia (Figura 6). Como demonstrado no nosso estudo, o maior acúmulo de C derivado da biomassa aérea

da e ervilhaca ocorreu nas frações da MO inter e intra-agregados em relação a aveia, mesmo aos 10 meses da adição dos resíduos vegetais (Figura 6).

4.3 Mecanismos de estabilização do C derivado da biomassa aérea e de raízes da aveia e ervilhaca influenciados pelo tempo de incubação

Nossos resultados evidenciaram que a associação da MO aos minerais do solo é o mecanismo chave de estabilização do C derivado de plantas e, ocorre primeiro e em maior proporção do que a oclusão física (Figura 6). O que pode sugerir que a incorporação de C recém adicionado em agregados do solo ocorreu menos rapidamente do que a associação do C às superfícies minerais, ou que a formação de agregados estáveis requer interações repetidas de flutuações ambientais, como sucessíveis períodos de crescimento de plantas, que não foi realizado nesse estudo (TOTSCHÉ *et al.*, 2017).

De modo geral, não ocorreu o aumento de C na fração da MO associada aos minerais entre o 10° e 21° mês da adição dos resíduos vegetais, exceto no solo com adição de biomassa aérea da aveia (Figura 6). Porém, esse aumento do C derivado da biomassa aérea da aveia na fração da MO associada aos minerais, parece ter relação com o contínuo aporte de C entre as coletas (Apêndice; Figura 4). Isso porque, a cinética de decomposição é mais lenta, determinando um contínuo fornecimento de C e N derivado da biomassa aérea da aveia para a atividade microbiana. Enquanto, quase todo o C da biomassa aérea da ervilhaca já tinha sido transferido aos 10 meses da adição dos resíduos vegetais, para aveia ainda restava em torno de 20% de C e N, o qual pode ter estabilizado parcialmente na MO associada aos minerais (Figura 4). Ou seja, entre 10° e 21° mês de incubação ainda foi transferido da biomassa aérea da aveia 93 g C m⁻² e 2,1 g N m⁻², enquanto a transferência da ervilhaca nesse mesmo período foi de apenas 21 g C m⁻² e 1 g N m⁻² (Figura 4). De maneira geral, as reduções de C da MO inter-agregados e intra-agregados entre o 10° e 21° mês da adição dos resíduos vegetais não tiveram relação com algum aumento do C estabilizado na MO associada aos minerais (Figura 6; Apêndice), ao contrário do que foi proposto por (CONCEIÇÃO; DIECKOW; BAYER, 2013; VELOSO; CECAGNO; BAYER, 2019) em solo inteiro e em classes de agregados no mesmo solo do presente estudo, respectivamente.

Os resultados encontrados por CONCEIÇÃO *et al.* (2013) e VELOSO *et al.* (2019), são suportados pelas hipótese que a decomposição parcial da MOP, que é retardada quando estar oclusa em agregados (MO intra-agregados), produz compostos orgânicos de menor peso molecular, que são mineralizados a CO₂ por catabolismo microbiano ou estabilizados na MO associada aos minerais (GRANDY; NEFF, 2008; LEHMANN; KLEBER, 2015). Ou seja, a decomposição e transformação microbiana de MOP eram considerados como precursor para a formação de MAOM (GRANDY; NEFF, 2008; LEHMANN; KLEBER, 2015). Portanto, os nossos resultados estão de acordo com outras evidências que indicaram que a MOP e MO associada aos minerais possuem vias de formação independente (COTRUFO *et al.*, 2015; COTRUFO; LAVALLEE, 2022; HADDIX *et al.*, 2020). Onde os compostos orgânicos solúveis derivados das plantas, principalmente de leguminosas e da rizodeposição são as principais fontes de C para a formação da MO associada aos minerais, cuja associação pode ocorrer via sorção direta ou indireta (COTRUFO *et al.*, 2015; FOSSUM *et al.*, 2022; SOKOL *et al.*, 2019). Por outro lado, considera-se que a MOP seja formada a partir da fragmentação de estruturas quimicamente mais recalcitrantes parcialmente decompostas (por exemplo, fibras ácidas não hidrolisáveis) (COTRUFO *et al.*, 2015). O que dá suporte a hipótese de que a conversão de MOP em MO associada aos minerais apresenta baixa eficiência, devido os microrganismos edáfico apresentarem baixa eficiência do uso dos compostos orgânicos quimicamente recalcitrantes (ou seja, ácido não hidrolisável) (COTRUFO *et al.*, 2013).

Por sua vez, nossos resultados não apoiam a hipótese que a MO associada aos minerais apresenta turnover lento, principalmente a recém adicionada ao solo. Visto a redução do C nesta fração verificada do 10^o ao 21^o mês da adição dos resíduos vegetais, principalmente do C derivado da ervilhaca (Figura 6). Esses resultados podem ter relação em parte com o delineamento do nosso estudo, segundo o qual foi realizado apenas um cultivo de plantas e que após o aporte de C pela biomassa aérea e raízes no início do trabalho, não houve mais nenhum cultivo de planta.

Sem cultivo de plantas, o C recém aportado e associado aos minerais e demais frações da MO passa a ser a principal fonte de C para sobrevivência da microbiota do solo. Além disso, o cultivo de plantas também atua como um dreno

do N inorgânico. Como esse cultivo não ocorreu, a permanência de uma maior quantidade de N na forma inorgânica pode contribuir para o aumento da atividade microbiana (SCHMATZ *et al.*, 2020) e consumo parcial do C recém aportado ao solo. Essa influência do cultivo de plantas na eficiência de estabilização do C no solo vem sendo observada na literatura (LI *et al.*, 2018).

Embora a MO associada aos minerais é considerada a fração da MO mais antiga, outros trabalhos também indicam que a associação mineral não garante uma proteção total (universal) a MO recém adicionada (KEILUWEIT *et al.*, 2012; KLEBER *et al.*, 2021; LI *et al.*, 2021; NEURATH *et al.*, 2021). Visto que os microrganismos associados as raízes podem produzir compostos reativos capazes de desencadear mecanismos de desestabilização da MO associada aos minerais (LI *et al.*, 2021). Isso é corroborado por estudo com ^{13}C -CPMAS NMR, segundo o qual é possível verificar mudanças na composição química da MO entre 1 e 2 anos da adição de C e acúmulo na MO associada aos minerais (FOSSUM *et al.*, 2022), sugerindo que o C na fração da MO associada aos minerais é constantemente transformado, anabolizado ou até catabolizado pela microbiota edáfica e, que parte do C pode ser perdido na forma de CO_2 ou COD (FOSSUM *et al.*, 2022; KEILUWEIT *et al.*, 2012).

5.0 Conclusões

O C derivado das raízes teve maior eficiência de estabilização no solo do que do C proveniente da biomassa aérea aos 10 meses da adição dos resíduos vegetais. A rizodeposição teve ter contribuído de forma expressiva para a maior eficiência de estabilização do C, porém, estudar os efeitos separados da rizodeposição e da biomassa radicular na eficiência de estabilização do C no solo em plantio direto ainda é um desafio para a Ciência do Solo.

A biomassa aérea da ervilhaca teve maior eficiência de estabilização do C aportado do que da aveia, e isso pode estar relacionado a maior proporção de compostos solúveis ricos em N que são incorporados ao solo de forma mais rápida e eficiente.

O mecanismo chave para a estabilização do C derivado das plantas foi a associação aos minerais do solo. Contudo, o C estabilizado na fração da MO associada aos minerais foi parcialmente mineralizado dos 10 aos 21 meses da adição dos resíduos vegetais. Não foram identificadas evidências de uma relação entre a redução da MO intra-agregados e aumento da MO associada aos minerais, sugerindo que a rizodeposição e os compostos orgânicos solúveis da biomassa aérea tiveram um papel preponderante no acúmulo de C nas associações organo-minerais.

A maior eficiência de estabilização do C das raízes da aveia (gramínea) e da biomassa aérea da ervilhaca (leguminosa) e a atuação de curta duração dos mecanismos envolvidos, reforça a necessidade de sistemas de rotação de culturas diversificados e com constante aporte de C quando se visa o sequestro de C em solos subtropicais em plantio direto.

CAPÍTULO IV – ESTABILIZAÇÃO DO C DERIVADO DE RAÍZES E BIOMASSA AÉREA EM MICROAGREGADOS DENTRO DE MACROAGREGADOS DE UM SOLO SUBTROPICAL EM PLANTIO DIRETO

1. Introdução

A estabilização do C na matéria orgânica é essencial para a resiliência dos solos agrícolas devido ao seu papel na saúde do solo e reflexos na produtividade das culturas e no potencial de sequestro de C no solo, principalmente em regiões tropicais e subtropicais (LAL, 2009; POWLSON *et al.*, 2016). Portanto, compreender os fatores que influenciam a estabilidade do C no solo é fundamental quanto ao potencial dos solos agrícolas para a produção de alimentos, bem como quanto ao seu papel na mitigação das mudanças climáticas, aspectos centrais da sustentabilidade da agricultura e da humanidade no futuro.

A estabilização da MO em solos em plantio direto tem como mecanismo chave o menor turnover dos macroagregados do solo, os quais constituem-se num local adequado para a estabilização do C (CONCEIÇÃO; DIECKOW; BAYER, 2013; SIX *et al.*, 1999; VELOSO; CECAGNO; BAYER, 2019). Apesar dos microagregados do solo serem mais resistentes à perturbação e oferecerem maior proteção à MO em relação aos microrganismos e suas enzimas (JASTROW *et al.*, 1996), é nos macroagregados onde o C recém adicionado ao solo (lábil) é acumulado, em sistemas agrícolas (DUNGAIT *et al.*, 2012; LEHMANN; KLEBER, 2015; LÜTZOW *et al.*, 2006; SCHMIDT *et al.*, 2011). Esse C estabilizado na MO oclusa em macroagregados do solo não consiste em uma fração homogênea e é estabilizado por diferentes mecanismos (VON LÜTZOW *et al.*, 2007). Pesquisas indicam que a formação da MO do solo estável ocorre

através da formação de microagregados dentro dos macroagregados (DENEFF *et al.*, 2004; SIX *et al.*, 1999) e, que após alguns meses da entrada do C nos macroagregados estáveis, ocorre a distribuição do C em microagregados (ANGERS; RECOUS; AITA, 1997). Isso evidencia que a oclusão de C em microagregados só ocorre após a oclusão na escala de macroagregados (VON LÜTZOW *et al.*, 2007). Contudo, pouco se sabe do papel das raízes e da qualidade do resíduo das plantas de cobertura (gramíneas e leguminosas), principalmente em solos em plantio direto, na estabilização do C em microagregados dentro dos macroagregados em solos subtropicais.

Muitos estudos têm indicado que o C derivado das raízes representa a maior quantidade de C na MO do solo, ao comparar com a biomassa aérea (AUSTIN *et al.*, 2017; KONG; SIX, 2010; PUGET; DRINKWATER, 2001; RASSE; RUMPEL; DIGNAC, 2005). Isso tem sido atribuído pela maior eficiência de estabilização do C das raízes, o que dentre outros fatores discutidos por POIRIER; ROUMET; MUNSON, 2018, destaca-se a proteção física das raízes e da sua rizodeposição desde o crescimento da planta dentro dos macroagregados do solo (DENEFF; SIX, 2006). Visto que, as raízes são agentes de formação de macroagregados, o que favorece a oclusão da MOP (massa de raízes) e a associação do C da rizodeposição aos minerais do solo dentro dos macroagregados, a qual pode dar início à formação de microagregados (FULTON-SMITH; COTRUFO, 2019).

Os resíduos vegetais derivados da biomassa aérea de plantas leguminosas são ricos em energia, apresentam baixa razão C:N e favorece a alta abundância de fungos em relação as bactérias edáficas durante a decomposição (CASTELLANO *et al.*, 2015; COTRUFO *et al.*, 2013; VELOSO *et al.*, 2020). Portanto, também podem contribuir para a estabilização do C em microagregados dentro dos macroagregados, pois as hifas dos fungos também podem contribuir para a formação de macroagregados (TISDALL; OADES, 1982). E os compostos orgânicos solúveis derivados da biomassa aérea podem ser facilmente imobilizados na microbiota edáfica adsorvida aos minerais (via indireta), ou ser diretamente adsorvidos aos minerais do solo dentro dos macroagregados, criando núcleos de formação de microagregados (COTRUFO *et al.*, 2013; GRANDY; NEFF, 2008; LIANG; KÄSTNER; JOERGENSEN, 2020; SOKOL *et al.*, 2019; SOKOL; BRADFORD, 2019; VELOSO *et al.*, 2022).

Portanto, a hipótese desse estudo considera que a proteção física das raízes desde do início do crescimento da planta e a liberação de C solúvel oriundo da rizodeposição criam ambiente favorável para o acúmulo de C nos microagregados dentro dos macroagregados, o que resulta na maior eficiência de estabilização do C derivado das raízes em relação a biomassa aérea. Bem como, o C derivado da biomassa aérea da ervilhaca, por apresentar maior proporção de compostos solúveis em relação a biomassa aérea da aveia, tende a se acumular nos microagregados dentro dos macroagregados e, resultar na maior eficiência de estabilização do C na MO do solo, em relação a aveia. O objetivo do estudo foi avaliar o papel da qualidade do resíduo vegetal (aveia preta vs. ervilhaca) e da fonte do C (biomassa aérea vs. raiz) na estabilização do C em microagregados e verificar se esse é o mecanismo preponderante da estabilização do C na MO num Argissolo do Sul do Brasil.

2. Material e Métodos

O cultivo da aveia preta e ervilhaca e o enriquecimento com $^{13}\text{CO}_2$, instalação do experimento pareado de biomassa aérea e raízes enriquecidas (^{13}C) e não enriquecidas (^{12}C), e coleta estratificada do solo aos 10 meses da adição dos resíduos vegetais foram descritos no capítulo anterior.

2.1 Classes de agregados de solo e isolamento de microagregados dentro de macroagregados

Este estudo foi conduzido a partir das colunas de solo com resíduos vegetais da biomassa aérea e de raízes intactas enriquecidas com ^{13}C e avaliadas após 10 meses da adição das fontes de C ao solo. Nessa ocasião, a biomassa aérea presente na superfície do solo foi removida, lavada em água corrente e quantificada em relação a sua massa, e analisada quanto aos teores de C e razão isotópica, conforme descrito nos itens 2.2 e 2.4.

O solo foi seccionado nas camadas 0-5, 5-10 e 10-30 cm, fracionado manualmente nos pontos de fraqueza, e passado em peneira de 10 mm e seco ao ar. As frações da massa de solo maior e menor do que 2 mm foram quantificadas e utilizadas a fim de compor amostras representativas do solo inteiro (VELOSO; CECAGNO; BAYER, 2019). Uma subamostra de solo foi

moída em gral de ágata e analisado quanto aos teores de C e razão isotópica $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$.

A separação das classes de agregados foi realizada conforme Carpenedo & Mielniczuk (1990), tendo sido separadas em quatro classes: (i) macroagregados grandes (>2 mm), (ii) macroagregados pequenos (2-0,25 mm), (iii) microagregados (0,25-0,053 mm) e (iv) partículas do tamanho silte e argila (< 0,053 mm). As classes macroagregados grandes e pequenos de cada amostra foram usadas para o isolamento dos microagregados do interior dos macroagregados, por meio de um equipamento baseado em Six et al. (1998), através do qual se provoca a quebra de macroagregados, e se realiza a separação dos microagregados liberados. Brevemente, 10 g de macroagregados secos a 50°C foram umedecidos durante a noite em água para enfraquecer os macroagregados fortemente estáveis dos solos tropicais intemperizados (ZOTARELLI *et al.*, 2007). Os macroagregados foram transferidos para o equipamento que continha uma peneira de malha de 250 μm e agitados com 50 bolas de inox (4 mm de diâmetro) por 5 min, o qual teve o objetivo de promover a quebra dos macroagregados e promover a liberação dos microagregados do seu interior, os quais foram transferidos para o recipiente com água localizado abaixo e retidos numa peneira de 53 μm , com auxílio de um fluxo contínuo de água. Os microagregados na peneira de 53 μm foram então peneirados por via úmida para separar os microagregados estáveis das partículas de silte e argila dispersas. Todos os microagregados foram lavados em um recipiente previamente pesado, secos em estufa a 50°C por entorno de 48h e quantificados em relação a sua massa. Uma subamostra dos macroagregados grandes (MG), macroagregados pequenos (M), microagregados (Micro), e da classe silte e argila livre (S+A), do microagregados e silte e argila do interior dos macroagregados grandes (Micro_MG, S+A_MG) e pequenos (Micro_M, S+A_M) foram moídas em almofariz de ágata e analisadas quanto aos teores de C e razão isotópica $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$.

2.2 Determinação dos teores de carbono e da razão isotópica $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$

O carbono orgânico e a razão isotópica $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ foram determinados em analisador CN (Flash 2000 IRMS, Thermo Fisher Scientific), acoplado a um

espectrômetro de massa de razão isotópica (DELTA V Advantage, Thermo Fisher Scientific).

Os valores de enriquecimento em ^{13}C foram expressos relativos ao padrão internacional Vienna-Pee Dee Belemnite (V-PDB) e calculados por meio das seguintes equações (Lu et al., 2002):

$$\delta^{13}\text{C} \text{ ‰} = (R_{\text{amostra}} - R_{\text{PDB}}) \times \left(\frac{1000}{R_{\text{PDB}}} \right) \quad \text{Eq. 1}$$

$$^{13}\text{C} \text{ (átomo ‰)} = 100 \times \frac{[(\delta^{13}\text{C} + 1000) \times R_{\text{PDB}}]}{[(\delta^{13}\text{C} + 1000) \times R_{\text{PDB}} + 1]} \quad \text{Eq. 2}$$

Onde: R amostra é a razão $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ na amostra; R-PDB é igual a 0,011179 (V-PDB).

2.3 Cálculos – Carbono acumulado nas classes de tamanho de agregado e proporção de C derivado da biomassa aérea e das raízes

O C derivado da biomassa aérea e das raízes da aveia e ervilhaca acumulado nas classes de agregados mencionadas acima foi calculado a partir da multiplicação do C orgânico do solo (g m^{-2}) pela proporção entre o $\delta^{13}\text{C}$ do solo e o $\delta^{13}\text{C}$ da raiz ou parte aérea (PA) (f), calculada conforme a equação 3 e 4. Foi utilizado o valor médio de $\delta^{13}\text{C}$ da abundância natural do solo e $\delta^{13}\text{C}$ da biomassa aérea e raízes não enriquecidas ($n=3$).

$$C_{\text{acumulado nos agregados de solo}} (\text{g m}^{-2}) = \text{COS} (\text{g m}^{-2}) \times f \quad \text{Eq.3}$$

$$f \quad \text{Eq.4}$$

$$= \frac{\delta^{13}\text{C}_{\text{agregados}} - \delta^{13}\text{C}_{\text{abundância natural do solo}}}{\delta^{13}\text{C}_{\text{raiz ou PA enriquecida}} - \delta^{13}\text{C}_{\text{raiz ou PA não enriquecida}}}$$

Onde: COS é o carbono orgânico do solo; f é a proporção do C derivado dos resíduos.

O C derivado da biomassa aérea e das raízes da aveia e ervilhaca acumulado na matéria orgânica particulada (MOP) nos MG e M foi calculada pela diferença entre o C acumulado MG e M e o somatório do C acumulado nos microagregados e na classe S+A isolados dentro do MG e M,

respectivamente. Por exemplo, C-MOP_MG = (C-MG) – (C-Micro_MG + C-S+A_MG).

A proporção de C derivado da biomassa aérea e das raízes nas classes de agregados de solo foi calculada para a camada de 0-30 cm, conforme a equação 5 (Kong e six):

$$\text{Proporção de C (\%)} = \frac{\sum^n C \text{ acumulado nas classes de tamanho de agregados}}{\sum^n C \text{ adicionado ao solo (raiz ou biomassa aérea)}} \times 100 \quad \text{Eq. 5}$$

onde n é o número de camadas de solo (0-5, 5-10 e 10-30 cm). O somatório do C da rizodeposição remanescente e C da biomassa de raiz foi considerado como C total adicionado ao solo pelo sistema radicular (Tabela 1). A quantidade de C derivado da biomassa aérea foi estimada pela diferença entre o C aportado na superfície do solo no início da incubação e o C remanescente na superfície do solo após 10 meses da adição dos resíduos (Tabela 8).

Tabela 8. Carbono quantificado na superfície do solo antes e aos 10 meses de incubação, derivado da biomassa aérea e raízes da aveia e ervilhaca, plantas de cobertura invernais do solo sob plantio direto.

Planta	Origem do C	C	
		C aportado	remanescente
		g C m ⁻²	
Aveia	Biomassa aérea	390	122
	Biomassa		
Aveia	raiz+rizodeposição	151	na
Ervilhaca	Biomassa aérea	370	25
	Biomassa		
Ervilhaca	raiz+rizodeposição	156	na

*na: não avaliado

2.4 Análise estatística

As variáveis quantitativas foram submetidas aos testes de Shapiro Wilk e Bartlett para confirmação dos pressupostos de distribuição normal e homogeneidade da variância, respectivamente. E a independência dos resíduos foi avaliada visualmente e, quando necessário foi realizada a transformação adequada. A ANOVA foi aplicada seguindo os preceitos de delineamento de

parcelas ao acaso em esquema bifatorial, em que o primeiro fator foi a planta (aveia e ervilhaca) e o segundo a origem do C (biomassa aérea e raízes), bem como a interação entre ambos. A análise foi realizada no ambiente R (RStudio Team, 2016) com auxílio do pacote ExpDes (FERREIRA; CAVALCANTI; NOGUEIRA, 2021).

3. Resultado

3.1 Distribuição de agregados estáveis em classes de tamanho e acúmulo de C derivado da biomassa aérea e das raízes da aveia e ervilhaca

De maneira geral, a proporção (%) dos agregados estáveis em classes de tamanho foi 24, 50, 18 e 8% para macroagregados grandes (MG), macroagregados (M), microagregados (Micro) e fração silte+argila (S+A), respectivamente (Figura 7). O solo sob cultivo da aveia apresentou maior distribuição de M do que sob ervilhaca (53 vs. 47%) na camada de 5-10 cm. Na camada de 10-30 cm, a aveia também determinou maior proporção de MG do que ervilhaca (24 vs. 20%) (Figura 7).

Na camada 0-5 cm, o acúmulo de C nos MG foi semelhante entre todos os tratamentos, em média, 4,5 g C m⁻² (p = 0,333). De modo geral, o acúmulo de C nos M representou em média, 63 e 43% do total de C acumulado ao solo derivado da biomassa aérea e das raízes das plantas de cobertura, respectivamente (Figura 8). O acúmulo de C derivado da ervilhaca foi aproximadamente 2 vezes maior em relação a aveia nos M (p < 0,001), Micro (p < 0,001) e na fração S+A (p = 0,006) na camada de 0-5 cm. Em relação a origem do C, o acúmulo de C derivado da biomassa aérea nos M (p < 0,001), Micro (p < 0,001) e na classe S+A (p < 0,001) foi 4, 2 e 2 vezes maior em relação às raízes. Além do efeito simple da planta e origem do C, foi identificada a interação entre esses fatores no C acumulado no M (p = 0,001), Micro (p < 0,001) e na classe S+A (p = 0,005). O C derivado da biomassa aérea da ervilhaca nos M teve um acúmulo de 57% maior do que da aveia (Figura 8). Nos Micro, o acúmulo de C derivado da biomassa aérea e das raízes da ervilhaca foi 2,7 e 1,5 vezes maior em relação a aveia, respectivamente (Figura 8). O C derivado da biomassa aérea da ervilhaca acumulou 2 vezes a mais do que o derivado da aveia e 3 vezes a mais do que as raízes da ervilhaca na fração S+A (Figura 8).

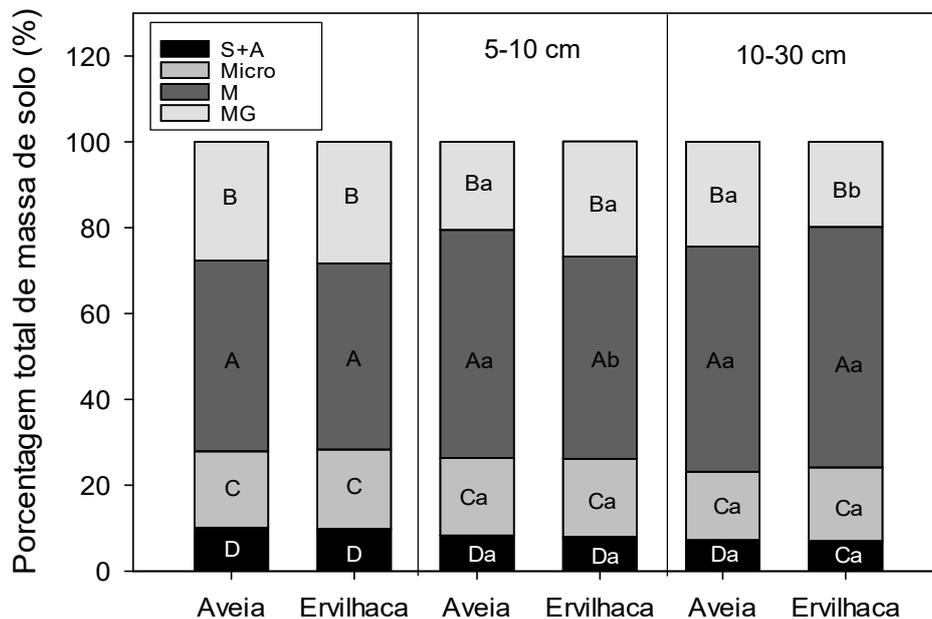


Figura 7. Distribuição do tamanho das classes de agregados nas camadas 0-5, 5-10 e 10-30 cm de um Argissolos sob plantio direto, após 10 meses da adição dos resíduos vegetais da aveia e ervilhaca. O média da aveia e ervilhaca.. Letras minúsculas comparam as classes de agregado dentro da camada do solo de acordo com o teste de Tukey ($p < 0,05$).

Na camada 5-10 cm, o acúmulo de C derivado da aveia foi 60% maior em relação a ervilhaca nos MG ($p = 0,007$). No Micro ($p = 0,005$) e na classe S+A ($p = 0,005$), o resultado foi oposto, o maior acúmulo de C foi derivado da ervilhaca e, no M foi semelhante entre plantas, em média, $2,5 \text{ g C m}^{-2}$. O acúmulo de C derivado da raiz nos MG ($p < 0,001$) foi 4 vezes maior em relação a biomassa aérea, enquanto que nos M ($p = 0,006$) e na fração S+A ($p < 0,004$) foi o dobro. O acúmulo de C nos Micros, não teve efeito da origem do C ($p = 0,963$). A espécie vegetal e a origem do C teve interação no efeito do acúmulo de C nos MG ($p = 0,002$) e na fração S+A ($p = 0,005$). O C derivado das raízes da aveia teve maior acúmulo de C nos MG e menor na fração S+A em relação a ervilhaca (Figura 8).

Na camada 10-30 cm, o acúmulo do C derivado das raízes foi aproximadamente 5, 2 e 3 vezes maior em relação a biomassa aérea nos MG ($p = 0,001$), M ($p = 0,001$) e na fração S+A ($p < 0,001$), respectivamente. O acúmulo de C derivado da biomassa aérea e das raízes da ervilhaca nos Micro e na fração S+A foi semelhante, e as raízes da aveia teve 3 e 5 vezes maior acúmulo de C

em relação a ervilhaca, respectivamente (Figura 8). O C acumulado das raízes da aveia foi 4 vezes maior em relação a biomassa aérea nos Micros e 5 vezes na fração S+A (Figura 8).

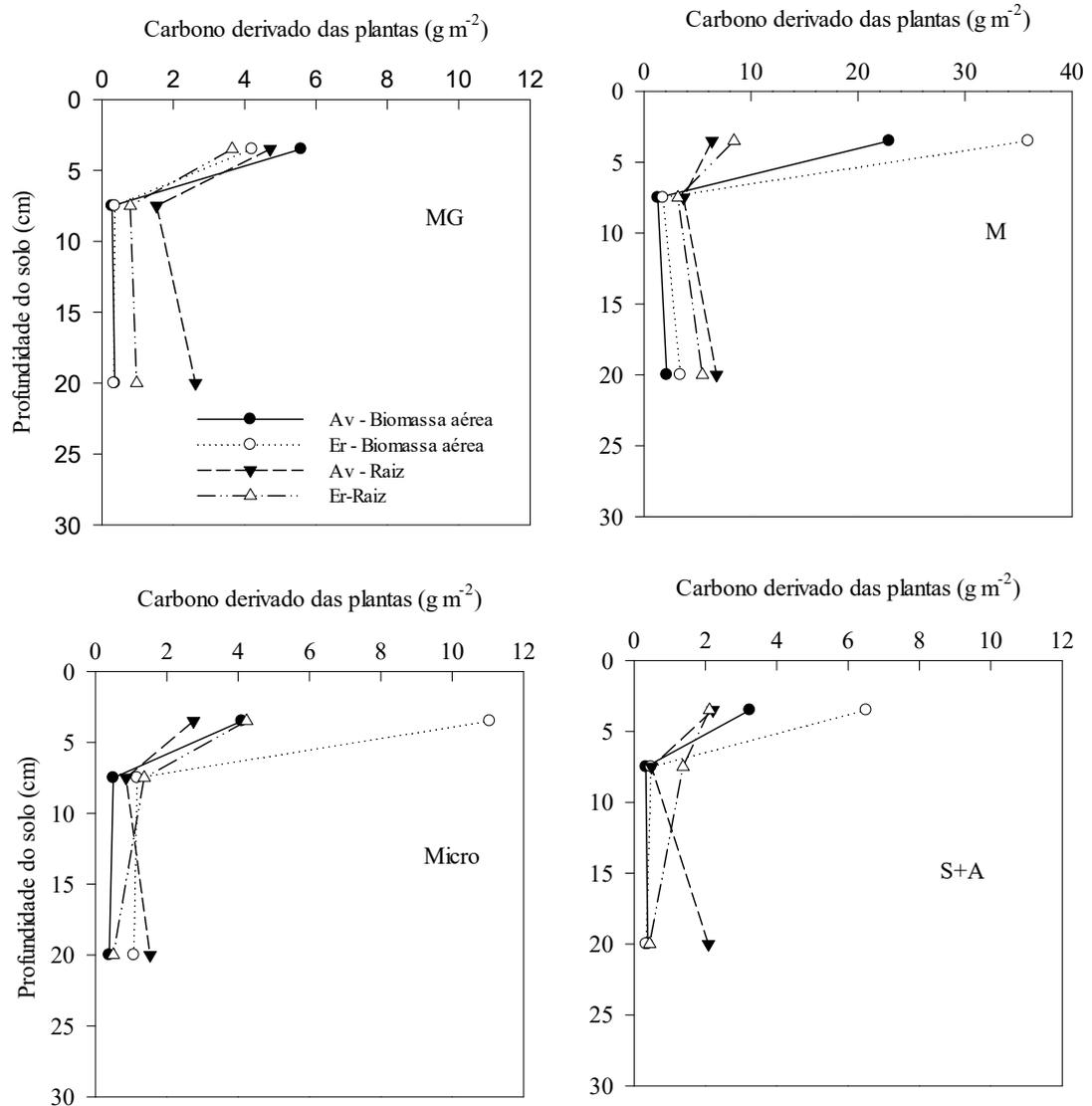


Figura 8. Carbono derivado da biomassa aérea e das raízes da aveia e ervilhaca nos macroagregados grandes (MG), macroagregados (M), microagregados (Micro) e na classe silte e argila (S+A) nas camadas de 0-5, 5-10 e 10-30 cm de um Argissolo sob plantio direto.

3.2 Proporção de C derivado da biomassa aérea e raízes da aveia e ervilhaca acumulado nas classes de tamanho de agregados do solo

Ao todo, o C derivado das raízes teve maior eficiência de estabilização no solo, sendo de 21%, enquanto da biomassa aérea foi de 17% ($p < 0,001$). Em

relação ao fator planta, não foi identificadas diferenças ($p = 0,601$), mas teve uma interação entre planta e origem de C ($p = 0,002$). A eficiência de acúmulo de C derivado da biomassa aérea da ervilhaca (19%) foi maior em relação a aveia (15%) e as raízes da aveia (24%) maior em relação a ervilhaca (21%).

A proporção de C derivado da aveia foi 67% maior no MG do que da ervilhaca (Figura 9a). Por outro lado, proporção de C derivado da ervilhaca nos M e Micro foi 9 e 48% maior em relação a aveia (Figura 9a). A proporção de C derivado da aveia e ervilhaca na fração S+A foi, em média, de 2,4% (Figura 9a). Em relação a origem do C, a proporção de C derivado das raízes nos MG foi duas vezes maior em relação da biomassa aérea (Figura 9a). Na fração S+A, a proporção de C derivado da raiz foi 63% maior em relação a biomassa aérea, nas demais classes a proporção de C foi semelhante (Figura 9a). A classe dos M foi onde teve a maior proporção de C derivado da biomassa aérea e das raízes (Figura 9a).

A proporção de C no microagregado (Micro_MG) [$p = 0,483$], S+A (S+A_MG) [$p = 0,315$] e MO particulada (MOP_MG) [$p = 0,192$] dentro dos MG do solo (camada 0-30 cm) não teve interação entre o fator qualidade do resíduo e origem de C. A proporção de C derivado da aveia nos Micro_MG ($p = 0,05$) e na MOP_MG ($p = 0,023$) foi 49 % e 1,6 vezes maior em relação a ervilhaca, respectivamente (Figura 4). A proporção de C derivado das raízes nos Micro_MG ($p < 0,001$) foi quatro vezes a mais em relação ao C derivado da biomassa aérea e o dobro na fração S+A_MG ($p = 0,003$) e na MOP_MG ($p = 0,023$) [Figura 9].

A proporção de C no microagregado dentro dos M na camada 0-30 cm do solo (Micro_M) teve interação entre o fator qualidade do resíduo e origem de C ($p = 0,019$). A proporção de C derivado da biomassa aérea da ervilhaca nos Micro_M foi 47% maior em relação da aveia, já o C derivado das raízes da ervilhaca e da aveia foi semelhante (Figura 9b). A proporção de C derivado da raiz da aveia no Micro_M foi maior em relação a biomassa aérea (5,1 vs. 3,7 g C m⁻²) [Figura 9b]. Na fração S+A_M, a proporção de C derivado da raiz foi maior do que da biomassa aérea (0,9 vs. 0,7 g C m⁻²) [Figura 9b]. E na MOP_M não teve efeito dos tratamentos (planta: $p = 0,514$; origem do C: $p = 0,429$; planta x origem do C: $p = 0,747$).

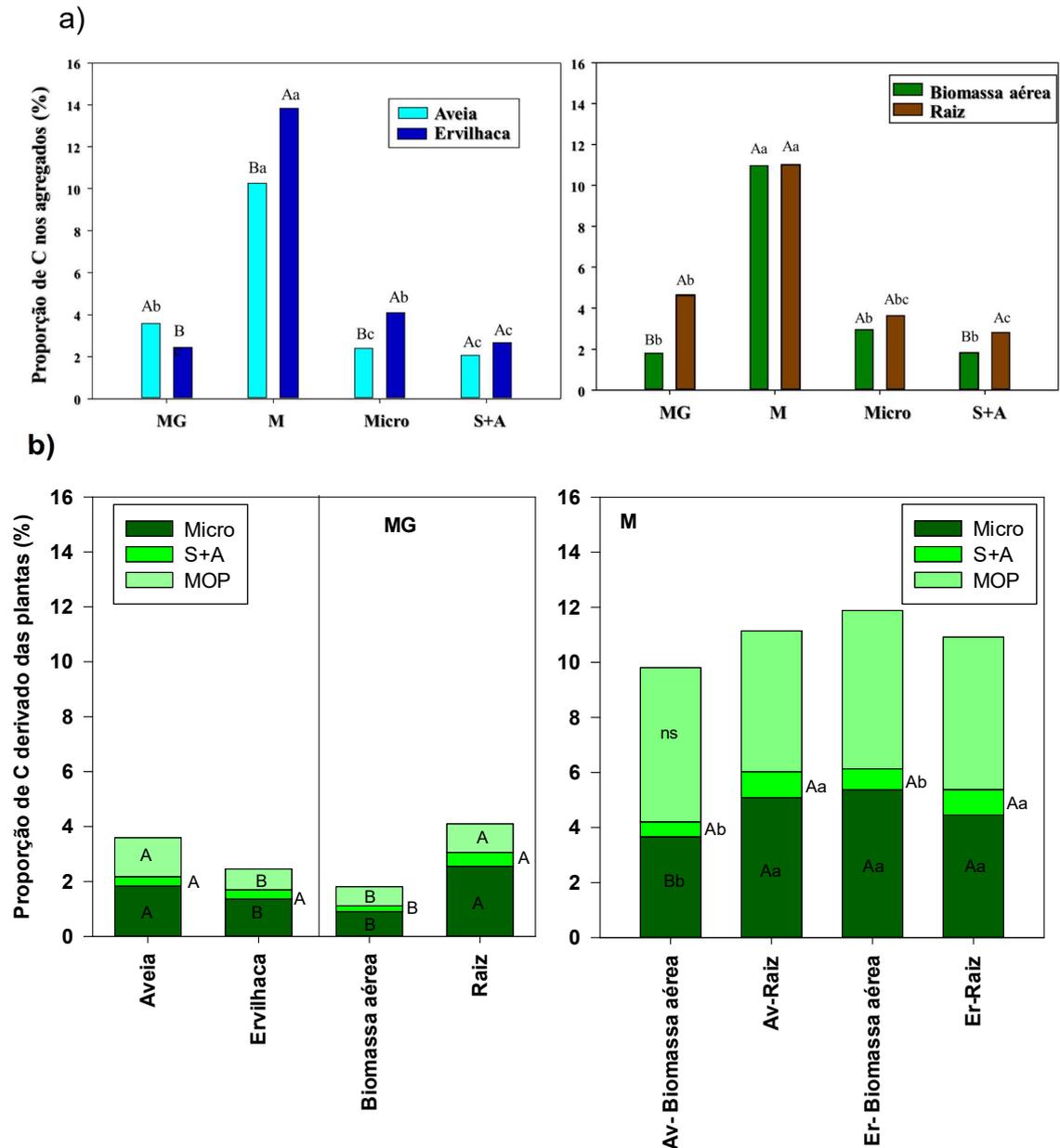


Figura 9. a) Proporção de C derivado da biomassa aérea e das raízes da aveia e ervilhaca nos macroagregados grandes (MG), macroagregados (M), microagregados livres (Micro) e classe silte e argila. b) Proporção de C derivado da biomassa aérea e das raízes da aveia e ervilhaca nos microagregados dentro dos MG e M de um Argissolo Vermelho.

4. Discussão

De maneira geral, nossos resultados evidenciam que os macroagregados estáveis em água é a classe de agregados na qual preferencialmente ocorre o maior acúmulo no solo de C derivado das plantas (em média 74%), assim como mensurado em outros estudos (ANGERS; RECOUS; AITA, 1997; BLAUD *et al.*, 2012; DAVINIC *et al.*, 2012; SAMSON *et al.*, 2020). Essa evidência reforça a

natureza dinâmica e ativa dos agregados estáveis como um lugar onde a decomposição é inibida pela inacessibilidade espacial e, onde ocorre o acúmulo de MO (DUNGAIT *et al.*, 2012; LÜTZOW *et al.*, 2006; SCHMIDT *et al.*, 2011). De tal forma que, até resíduos mais lábeis, como o C da biomassa aérea da ervilhaca é acumulado preferencialmente nos macroagregados (Figura 9b).

Embora os macroagregados estáveis do solo sejam estruturas importantes para o acúmulo da MO, eles possuem alta complexidade e diversidade, são compostos por microagregados, MO particulada e partículas de tamanho silte e argila. Portanto, examinar a formação de MO apenas no primeiro nível de classes de tamanho de agregado impede a identificação de caminhos subjacentes. No geral, 45% do C do solo foi acumulado nos microagregados dentro dos macroagregados, no nosso estudo, tendo como destaque a maior proporção de C derivado das raízes nos MG e M (Figura 9b). O que pode ter resultado na maior eficiência de estabilização do C derivado das raízes reportado pelo nosso estudo e confirmado também por outros autores (AUSTIN *et al.*, 2017; KONG; SIX, 2010; PUGET; DRINKWATER, 2001; RASSE; RUMPEL; DIGNAC, 2005).

Dois fatores provavelmente contribuíram para esse resultado. Primeiro, o efeito residual do período de crescimento das raízes, pois elas contribuíram para a maior formação de MG, principalmente as raízes da aveia (Figura 7). Em segundo lugar, as raízes liberam compostos orgânicos lábeis via rizodeposição que podem formar núcleos de iniciação de microagregados dentro dos macroagregados por meio de adsorção direta do C com os minerais do solo, ou pela rápida imobilização pela comunidade microbiana que fica adsorvida aos minerais, formando MO associada aos minerais de via indireta. De fato, identificamos a maior proporção de C derivado das raízes nos microagregados isolados do MG e na fração S+A, em relação a biomassa aérea (Figura 9b). Contudo, no M, a origem do C teve interação com a qualidade do resíduo, em que somente para aveia, a proporção de C derivado das raízes foi maior nos microagregados isolado do M em relação a biomassa aérea (Figura 9b). O que ressalta a importância da labilidade do C derivado das plantas na formação de microagregados dentro dos macroagregados, principalmente para o C derivado da biomassa aérea que não tem proteção física prévia, como as raízes.

Nossos resultados identificaram que apesar do C derivado da aveia e ervilhaca terem eficiência semelhante na estabilização do C na MO, a

distribuição nas classes de tamanho de agregados foi diferente, o que pode impactar no tempo de permanência do C no solo. A maior proporção de C derivado da ervilhaca foi quantificada nos M e Micro livres. Estudos anteriores do nosso grupo de pesquisa identificou que o solo sob leguminosa como planta de cobertura tem maior abundância de fungos (VELOSO *et al.*, 2020), o que pode contribuir para a maior proporção de C quantificado nos macroagregados derivado da ervilhaca, pois as hifas de fungos também são agentes de formação de macroagregados (TISDALL; OADES, 1982). Portanto, postulamos que a aveia, devido a maior abundância do sistema radicular e recalcitrância bioquímica contribui para a maior proporção de C no MG (Figura 3). E a ervilhaca, devido a sua maior labilidade, associado a possível maior abundância de fungos contribuiu para a maior proporção de C no M e Micro (Figura 3).

Um estudo realizado por ANGERS *et al.* (1997) que rastreou o ^{13}C e ^{15}N resíduos vegetais de milho em classes de tamanho de agregados durante 540 dias, identificou que a partir de 200 dias de incubação ocorreu a redução dos macroagregados e, o aumento dos microagregados. Esse resultado dá suporte ao entendimento que os microagregados livres foram formados dentro dos macroagregados e, que em médio prazo ocorre a fragmentação dos macroagregados e liberação do micro que estavam dentro dos macroagregados (ANGERS *et al.*, 1997). O nosso estudo não permitiu identificar essa dinâmica, pois o estudo contou apenas com uma época de coleta. Mas tendo como suporte o estudo de Angers *et al.*, 1997, pode ser lançada a hipótese que a maior proporção de C nos microagregados derivado da ervilhaca, pode ter tido origem dentro dos macroagregados e, a partir da fragmentação parcial do macroagregados ao longo dos 10 meses de incubação, ocorreu a liberação do microagregados. Contudo no nosso estudo só foi verificado indícios da maior proporção de C derivado da biomassa aérea da ervilhaca nos microagregados dentro dos macroagregados

5. Conclusão

As raízes têm maior eficiência na estabilização do C, pois a localização das raízes associada a liberação contínua da rizodeposição contribuem para a estabilização do C nos microagregados dentro dos macroagregados, sendo esse

um mecanismo chave para a estabilização do C em solo subtropical. Somente para a biomassa aérea, a maior qualidade do resíduo vegetal contribui para a estabilização de C em microagregados dentro do macroagregados.

Os resultados reforçam a importância da diversificação das plantas de cobertura na agricultura conservacionista, pois o sistema radicular das gramíneas e a biomassa aérea das leguminosas contribuem para maior formação de macroagregados e no acúmulo de C em microagregados isolados desses macroagregados.

CAPÍTULO V – CONCLUSÕES GERAIS

O sistema radicular das plantas de cobertura contribui, em média, com 29% da adição total de C pela aveia preta e ervilhaca, sendo que a rizodeposição contribuiu com 38% do C aportado pelo sistema radicular, destacando a grande importância da massa de raízes e da rizodeposição em relação ao aporte de C ao solo pelas plantas de cobertura invernais. A contribuição desses componentes vegetais no aporte de C evidencia a importância de quantificar o C da rizodeposição, a fim de avaliar a estabilização do C via sistema radicular, pois a ausência desse valor pode subestimar a adição de C e, portanto, superestimar a eficiência de estabilização do C aportado via sistema radicular. Apresentamos evidências que solos subtropicais sob plantio direto consolidado é um sistema adequado para a estabilização do C a longo prazo, após 21 meses de incubação, ainda restava 14% de C das plantas na MO do solo.

Os resultados dessa tese contribuíram para o entendimento dos mecanismos que atuam para a maior eficiência de estabilização do C derivado de raízes e da biomassa aérea de plantas de cobertura em solos sob plantio direto do subtropico brasileiro. Nossos resultados evidenciaram que o C derivado das raízes, principalmente das gramíneas e, da biomassa aérea de leguminosas é preferencialmente estabilizado ao solo, pelo o mecanismo de oclusão da MO do solo em microagregados isolados de macroagregados e da associação organo-mineral, quando avaliado no solo inteiro. A partir dos nossos resultados, pode ser inferido que o maior acúmulo de C principalmente das camadas mais subsuperficiais (10-30 cm) em solos do subtropico em plantio direto, mesmo após 30 anos de cultivo advém da maior eficiência de estabilização das raízes. Mas nossos resultados, também reforçam a importância da diversificação das plantas de cobertura, leguminosas e gramíneas para o aumento da MO em solos sob plantio direto. Visto, o destaque da maior eficiência de estabilização da

biomassa aérea da leguminosa, e das raízes da gramínea. Apesar da maior eficiência da estabilização do C derivado das raízes, a maior quantidade de C aportado ao solo é derivado da biomassa aérea, o que evidencia a importância de manter na superfície do solo, a biomassa aérea das plantas. Pois esse C é fonte de energia para os organismos edáficos, e tem a finalidade de manter funcionalidade do solo, que resulta em propriedades importante para a manutenção da produtividade das culturas, como a ciclagem de nutrientes, agregação do solo.

Os mecanismos de estabilização da MO do solo não persistiram ao longo dos 21 meses de incubação, o que evidencia que a MO do solo recém formadas pelas plantas de cobertura pode ser considerada como ativa, de ciclo rápido. O que favorece a rápida ciclagem e disponibilidade de nutrientes, sendo importante para a produtividade dos sistemas agrícolas. Porém, é necessário manejar os sistemas agrícolas, de modo que, tenha um constante cultivo de plantas diversas no espaço e no tempo. E assim, ativar diferentes mecanismos de estabilização do C e conduzir ao maior acúmulo de C nesses sistemas.

REFERÊNCIAS

- AMADO, Telmo Jorge Carneiro *et al.* Potential of carbon accumulation in no-till soils with intensive use and cover crops in southern Brazil. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v. 35, n. 4, p. 1599-1607, 2006. Disponível em: <https://www.agronomy.org/publications/jeq/abstracts/35/4/1599>. Acesso em: 20 fev. 2019.
- ANDRADE, Carlos Augusto Oliveira *et al.* Straw production and agronomic performance of soybean intercropped with forage species in no-tillage system. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 52, n. 10, p. 861–868, 2017.
- ANGERS, D. A.; RECOUS, S.; AITA, C. Fate of carbon and nitrogen in water-stable aggregates during decomposition of ¹³C¹⁵N-labelled wheat straw in situ. **European Journal of Soil Science**, Oxford, v. 48, n. 2, p. 295–300, 1997.
- ANGST, Gerrit *et al.* Aggregation controls the stability of lignin and lipids in clay-sized particulate and mineral associated organic matter. **Biogeochemistry**, The Hague, v. 132, n. 3, p. 307–324, 2017.
- AUSTIN, Emily E. *et al.* Cover crop root contributions to soil carbon in a no-till corn bioenergy cropping system. **GCB Bioenergy**, Oxford, v. 9, n. 7, p. 1252–1263, 2017.
- BALESDENT, J.; BALABANE, M. Maize root-derived soil organic carbon estimated by natural ¹³C abundance. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 24, n. 2, p. 97–101, 1992.
- BALESDENT, Jérôme; BALABANE, May. Major contribution of roots to soil carbon storage inferred from maize cultivated soils. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 28, n. 9, p. 1261–1263, 1996.
- BAYER, Cimélio *et al.* Organic matter storage in a sandy clay loam Acrisol affected by tillage and cropping systems in southern Brazil. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 54, n. 1/2, p. 101–109, 2000.
- BERHONGARAY, Gonzalo *et al.* Below-ground carbon inputs contribute more than above-ground inputs to soil carbon accrual in a bioenergy poplar plantation. **Plant and Soil**, The Hague, v. 434, n. 1/2, p. 363–378, 2019.
- BLAUD, A. *et al.* Dynamics of bacterial communities in relation to soil aggregate formation during the decomposition of ¹³C-labelled rice straw. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 53, p. 1–9, 2012. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.apsoil.2011.11.005>. Acesso em: 10 fev. 2018.
- BÖHM, W. **Methods of studying root systems**. Berlin: Springer, 1979.
- BOLINDER, M. A.; ANGERS, D. A.; DUBUC, J. P. Estimating shoot to root

ratios and annual carbon inputs in soils for cereal crops. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v. 63, n. 1, p. 61–66, 1997.

BROMAND, Søren *et al.* A pulse-labelling method to generate ¹³C- enriched plant materials. **Plant and Soil**, The Hague, v. 235, n. 2, p. 253–257, 2001.

BURR-HERSEY, Jasmine E. *et al.* Developmental morphology of cover crop species exhibit contrasting behaviour to changes in soil bulk density, revealed by X-ray computed tomography. **PLoS ONE**, San Francisco, v. 12, n. 7, [art.] e0181872, [p. 1–18], 2017.

BUYANOVSKY, G. A.; WAGNER, G. H. Carbon transfer in a winter wheat (*Triticum aestivum*) ecosystem. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 82, p. 5-76, 1987.

CASTELLANO, Michael J. *et al.* Integrating plant litter quality, soil organic matter stabilization, and the carbon saturation concept. **Global Change Biology**, Oxford, v. 21, n. 9, p. 3200–3209, 2015.

CONCEIÇÃO, Paulo Cesar; DIECKOW, Jeferson; BAYER, Cimélio. Combined role of no-tillage and cropping systems in soil carbon stocks and stabilization. **Soil & Tillage Research**, Amsterdam, v. 129, p. 40–47, 2013.

COTRUFO, M. Francesca *et al.* Formation of soil organic matter via biochemical and physical pathways of litter mass loss. **Nature Geoscience**, London, v. 8, n. 10, p. 776–779, 2015. Disponível em: <http://www.nature.com/doi/10.1038/ngeo2520>. Acesso em: 12 mar. 2020.

COTRUFO, M. Francesca *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, n. 4, p. 988–995, 2013.

COTRUFO, M. Francesca; LAVALLEE, Jocelyn M. Soil organic matter formation, persistence, and functioning: a synthesis of current understanding to inform its conservation and regeneration. *In*: SPARKS, D. L. (ed.). **Advances in Agronomy**. Amsterdam: Academic Press, 2022. v. 172, p. 1–66.

DAVINIC, Marko *et al.* Pyrosequencing and mid-infrared spectroscopy reveal distinct aggregate stratification of soil bacterial communities and organic matter composition. **Soil Biology and Biochemistry**, Amsterdam, v. 46, p. 63–72, 2012. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.soilbio.2011.11.012>. Acesso em: 5 nov. 2018

DENEF, Karolien *et al.* Carbon sequestration in microaggregates of no-tillage soils with different clay mineralogy. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 68, n. 6, p. 1935–1944, 2004.

DENEF, K.; SIX, J. Contributions of incorporated residue and living roots to aggregate-associated and microbial carbon in two soils with different clay mineralogy. **European Journal of Soil Science**, Oxford, v. 57, n. 6, p. 774–

786, 2006.

DUNGAIT, Jennifer A. J. *et al.* Soil organic matter turnover is governed by accessibility not recalcitrance. **Global Change Biology**, Oxford, v. 18, n. 6, p. 1781–1796, 2012.

FERREIRA, Eric Batista; CAVALCANTI, Portya Piscitelli; NOGUEIRA, Denismar Alves. **ExpDes**: experimental designs package. R package version 1.2.2. Vienna: R Foundation, 2021.

FOSSUM, Christina *et al.* Belowground allocation and dynamics of recently fixed plant carbon in a California annual grassland. **Soil Biology and Biochemistry**, Amsterdam, v. 165, [art.] 108519, [p. 1-11], 2022.

GRANDY, A. Stuart; NEFF, Jason C. Molecular C dynamics downstream: the biochemical decomposition sequence and its impact on soil organic matter structure and function. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 404, p. 297–307, 2008.

GUARESCHI, Roni Fernandes; PEREIRA, Marcos Gervasio; PERIN, Adriano. Deposição de resíduos vegetais, matéria orgânica leve, estoques de carbono e nitrogênio e fósforo remanescente sob diferentes sistemas de manejo no cerrado goiano. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 36, p. 909–920, 2012.

HADDIX, Michelle L. *et al.* Climate, carbon content, and soil texture control the independent formation and persistence of particulate and mineral-associated organic matter in soil. **Geoderma**, Amsterdam, v. 363, [art.] 114160, [p. 1-10], 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2019.114160>. Acesso em: 6 out. 2021.

HIRTE, Juliane *et al.* Below ground carbon inputs to soil via root biomass and rhizodeposition of field-grown maize and wheat at harvest are independent of net primary productivity. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v. 265, p. 556–566, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.agee.2018.07.010>. Acesso em: 8 jun. 2021.

INDA JUNIOR, Alberto Vasconcellos *et al.* Variáveis relacionadas à estabilidade de complexos organo-minerais em solos tropicais e subtropicais brasileiros. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 37, n. 5, p. 1301–1307, 2007.

JONES, D. L. *et al.* Rapid intrinsic rates of amino acid biodegradation in soils are unaffected by agricultural management strategy. **Soil Biology and Biochemistry**, Amsterdam, v. 37, n. 7, p. 1267–1275, 2005.

KALLENBACH, C. M. *et al.* Microbial physiology and necromass regulate agricultural soil carbon accumulation. **Soil Biology and Biochemistry**, Amsterdam, v. 91, p. 279–290, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.soilbio.2015.09.005>. Acesso em: 21 nov. 2020.

KALLENBACH, C. M.; FREY, S. D.; GRANDY, A. S. Direct evidence for

microbial-derived soil organic matter formation and its ecophysiological controls. **Nature Communications**, London, v. 7, [art.] 13630, [p. 1–10], 2016.

KEILUWEIT, Marco *et al.* Nano-scale investigation of the association of microbial nitrogen residues with iron (hydr)oxides in a forest soil O-horizon. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, Oxford, v. 95, p. 213–226, 2012. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.gca.2012.07.001>. Acesso em: 14 maio 2020.

KLEBER, Markus *et al.* Dynamic interactions at the mineral–organic matter interface. **Nature Reviews Earth & Environment**, London, v. 2, p. 402–421, 2021.

KLEBER, M.; SOLLINS, P.; SUTTON, R. A conceptual model of organo-mineral interactions in soils: self-assembly of organic molecular fragments into zonal structures on mineral surfaces. **Biogeochemistry**, The Hague, v. 85, n. 1, p. 9–24, 2007.

KONG, Angela Y. Y.; SIX, Johan. Tracing root vs. residue carbon into soils from conventional and alternative cropping systems. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 74, n. 4, p. 1201–1210, 2010. Disponível em: <https://www.soils.org/publications/sssaj/abstracts/74/4/1201>. Acesso em: 28 ago. 2019.

KOPITTKE, Peter M. *et al.* Nitrogen-rich microbial products provide new organo-mineral associations for the stabilization of soil organic matter. **Global Change Biology**, Oxford, v. 24, n. 4, p. 1762–1770, 2018.

KUZYAKOV, Yakov; BLAGODATSKAYA, Evgenia. Microbial hotspots and hot moments in soil: concept & review. **Soil Biology and Biochemistry**, Amsterdam, v. 83, p. 184–199, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.soilbio.2015.01.025>. Acesso em: 11 abr. 2018.

LEHMANN, Johannes; KLEBER, Markus. The contentious nature of soil organic matter. **Nature**, London, v. 528, n. 7580, p. 60–68, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/nature16069>. Acesso em: 14 maio 2018.

LI, Zengqiang *et al.* Contributions of residue-C and -N to plant growth and soil organic matter pools under planted and unplanted conditions. **Soil Biology and Biochemistry**, Amsterdam, v. 120, p. 91–104, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2018.02.005>. Acesso em: 18 jun. 2020.

LI, Hui *et al.* Simple plant and microbial exudates destabilize mineral-Associated organic matter via multiple pathways. **Environmental Science and Technology**, Easton, v. 55, n. 5, p. 3389–3398, 2021.

LIANG, Chao; KÄSTNER, Matthias; JOERGENSEN, Rainer Georg. Microbial necromass on the rise: the growing focus on its role in soil organic matter development. **Soil Biology and Biochemistry**, Amsterdam, v. 150, p. 2018–2021, 2020.

LU, Yahai; WATANABE, Akira; KIMURA, Makoto. Contribution of plant-derived carbon to soil microbial biomass dynamics in a paddy rice microcosm. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 36, n. 2, p. 136–142, 2002.

LÜTZOW, M. V. *et al.* Stabilization of organic matter in temperate soils: mechanisms and their relevance under different soil conditions - A review. **European Journal of Soil Science**, Oxford, v. 57, n. 4, p. 426–445, 2006. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2389.2006.00809.x>. Acesso em: 28 jan. 2019.

MAO, Jiefei *et al.* The influence of vegetation on soil water repellency-markers and soil hydrophobicity. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 566/567, p. 608–620, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.05.077>. Acesso em: 25 nov 2021.

MARTINS, Márcio R.; ANGERS, Denis A.; CORÁ, José E. Co-accumulation of microbial residues and particulate organic matter in the surface layer of a no-till Oxisol under different crops. **Soil Biology and Biochemistry**, Amsterdam, v. 50, p. 208–213, 2012. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.soilbio.2012.03.024>. Acesso em: 21 out. 2018.

MCDANIEL, M. D.; TIEMANN, L. K. Does agricultural crop diversity enhance soil microbial biomass and organic matter dynamics? A meta-analysis. **Ecological Applications**, Tempe, v. 24, n. 3, p. 560–570, 2014. Disponível em: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1890/13-0616.1/full>. Acesso em: 15 jul. 2018.

MIAO, Yuncai *et al.* Lower microbial carbon use efficiency reduces cellulose-derived carbon retention in soils amended with compost versus mineral fertilizers. **Soil Biology and Biochemistry**, Amsterdam, v. 156, [art.] 108227, [p. 1-11], 2021.

NEURATH, Rachel A. *et al.* Root carbon interaction with soil minerals is dynamic, leaving a legacy of microbially derived residues. **Environmental Science & Technology**, Easton, v. 55, n. 19, p. 13345–13355, 2021.

NUNES, Rafael de Souza *et al.* Sistemas de manejo e os estoques de carbono e nitrogênio em latossolo de cerrado com a sucessão soja-milho. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 35, p. 1407–1419, 2011.

OADES, J. M.; WATERS, A. G. Aggregate hierarchy in soils. **Australian Journal of Soil Research**, Melbourne, v. 29, p. 815–828, 1991.

POIRIER, Vincent; ROUMET, Catherine; MUNSON, Alison D. The root of the matter: linking root traits and soil organic matter stabilization processes. **Soil Biology and Biochemistry**, Amsterdam, v. 120, p. 246–259, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2018.02.016>. Acesso em: 25 set. 2019.

PUGET, P.; DRINKWATER, L. E. Short-term dynamics of root- and shoot-derived carbon from a leguminous green manure. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 65, n. 3, p. 771–779, 2001.

SÁ, João 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.

SÁ, João C. M. *et al.* Long-term tillage systems impacts on soil C dynamics, soil resilience and agronomic productivity of a Brazilian Oxisol. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 136, p. 38–50, 2014.

SAMSON, Marie Elise *et al.* Management practices differently affect particulate and mineral-associated organic matter and their precursors in arable soils. **Soil Biology and Biochemistry**, Amsterdam, v. 148, [art.] 107867, [p. 1-9], 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2020.107867>. Acesso em: 27 maio 2021.

SAUVADET, Marie *et al.* High carbon use efficiency and low priming effect promote soil C stabilization under reduced tillage. **Soil Biology and Biochemistry**, Amsterdam, v. 123, p. 64–73, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2018.04.026>. Acesso em: 18 jun. 2020.

SCHMATZ, Raquel *et al.* How the mass and quality of wheat and vetch mulches affect drivers of soil N₂O emissions. **Geoderma**, Amsterdam, v. 37, [art.] 114395, [p. 1-13], 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2020.114395>. Acesso em: 7 maio 2020.

SCHMIDT, Michael W I *et al.* Persistence of soil organic matter as an ecosystem property. **Nature**, London, v. 478, n. 7367, p. 49–56, 2011.

SILVA, J. E. *et al.* Carbon storage in clayey Oxisol cultivated pastures in the “cerrado” region, Brazil. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v. 103, n. 2, p. 357–363, 2004.

SIX, J. *et al.* Recycling of sodium polytungstate used in soil organic matter studies. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 31, n. 8, p. 1193–1196, 1999.

SOKOL, Noah W. *et al.* Evidence for the primacy of living root inputs, not root or shoot litter, in forming soil organic carbon. **New Phytologist**, Oxford, v. 221, n. 1, p. 233–246, 2019.

SOKOL, Noah W.; BRADFORD, Mark A. Microbial formation of stable soil carbon is more efficient from belowground than aboveground input. **Nature Geoscience**, London, v. 12, n. 1, p. 46–53, 2019. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/s41561-018-0258-6>. Acesso em: 20 jan. 2022.

TAHIR, Majid Mahmood. **Destino do carbono de raízes e parte aérea de culturas de inverno enriquecidas com ¹³C em solo sob plantio direto**. 2015. 145 f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2015.

TAHIR, Majid Mahmood *et al.* Field¹³C pulse labeling of pea, wheat, and vetch plants for subsequent root and shoot decomposition studies. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 42, [art.] e0160449, [p. 1–14], 2018.

TAHIR, Majid Mahmood *et al.* In situ roots decompose faster than shoots left on the soil surface under subtropical no-till conditions. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 52, n. 6, p. 853–865, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s00374-016-1125-5>. Acesso em: 21 maio 2018.

TIEMANN, L. K. *et al.* Crop rotational diversity enhances belowground communities and functions in an agroecosystem. **Ecology Letters**, Oxford, v. 18, p. 761–771, 2015.

TISDALL, J. M.; OADES, J. M. Organic matter and water stable aggregates in soil. **Soil Science**, New Brunswick, v. 33, n. 2, p. 141–163, 1982.

VELOSO, M. G. *et al.* Carbon accumulation and aggregation are mediated by fungi in a subtropical soil under conservation agriculture. **Geoderma**, Amsterdam, v. 363, [art.] 114159, [p. 1-7] , 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2019.114159>. Acesso em: 18 dez. 2020.

VELOSO, M. G. *et al.* High carbon storage in a previously degraded subtropical soil under no-tillage with legume cover crops. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v. 268, p. 15–23, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.agee.2018.08.024>. Acesso em: 21 dez. 2018.

VELOSO, M. G. *et al.* Mineral–organic associations are enriched in both microbial metabolites and plant residues in a subtropical soil profile under no-tillage and legume cover cropping. **Soil Research**, New Brunswick, v. 60, n. 6, p. 590-600, 2022. Disponível em: <http://www.publish.csiro.au/?paper=SR21151>. Acesso em: 19 dez. 2022.

VELOSO, M. G.; CECAGNO, D.; BAYER, C. Legume cover crops under no-tillage favor organomineral association in microaggregates and soil C accumulation. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 190, p. 139–146, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.still.2019.03.003>. Acesso em: 1º dez. 2019.

VIDAL, Alix *et al.* Linking 3D soil structure and plant-microbe-soil carbon transfer in the rhizosphere. **Frontiers in Environmental Science**, Lausanne, v. 6, [art.] 9, [p. 1–14], 2018.

VON LÜTZOW, Margit *et al.* SOM fractionation methods: relevance to functional pools and to stabilization mechanisms. **Soil Biology and Biochemistry**, Amsterdam, v. 39, n. 9, p. 2183–2207, 2007.

WILLIAMS, Mark A.; MYROLD, David D.; BOTTOMLEY, Peter J. Distribution and fate of ¹³C-labeled root and straw residues from ryegrass and crimson clover in soil under western Oregon field conditions. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 42, n. 6, p. 523–531, 2006.

YEVDOKIMOV, Ilya *et al.* Microbial immobilisation of ^{13}C rhizodeposits in rhizosphere and root-free soil under continuous ^{13}C labelling of oats. **Soil Biology and Biochemistry**, Amsterdam, v. 38, n. 6, p. 1202–1211, 2006.

Apêndices



Representa as etapas do projeto que foram realizadas. A) coleta dos cilindros de PVC com solo; B) vista superior do cilindro, mostrando que foi deixado um espaço de 5 cm para colocar o resíduo após o cultivo da ervilhaca e aveia; C) instalação dos cilindros em caixas com areia em casa de vegetação; D) monitoramento da umidade e da temperatura do solo dentro do cilindro; E) vista do arranjo das caixas; F) desenvolvimento da aveia preta, sendo que em uma caixa as plantas foram enriquecidas (direita) e na outra (esquerda) não foram enriquecidas com ^{13}C e ^{15}N .

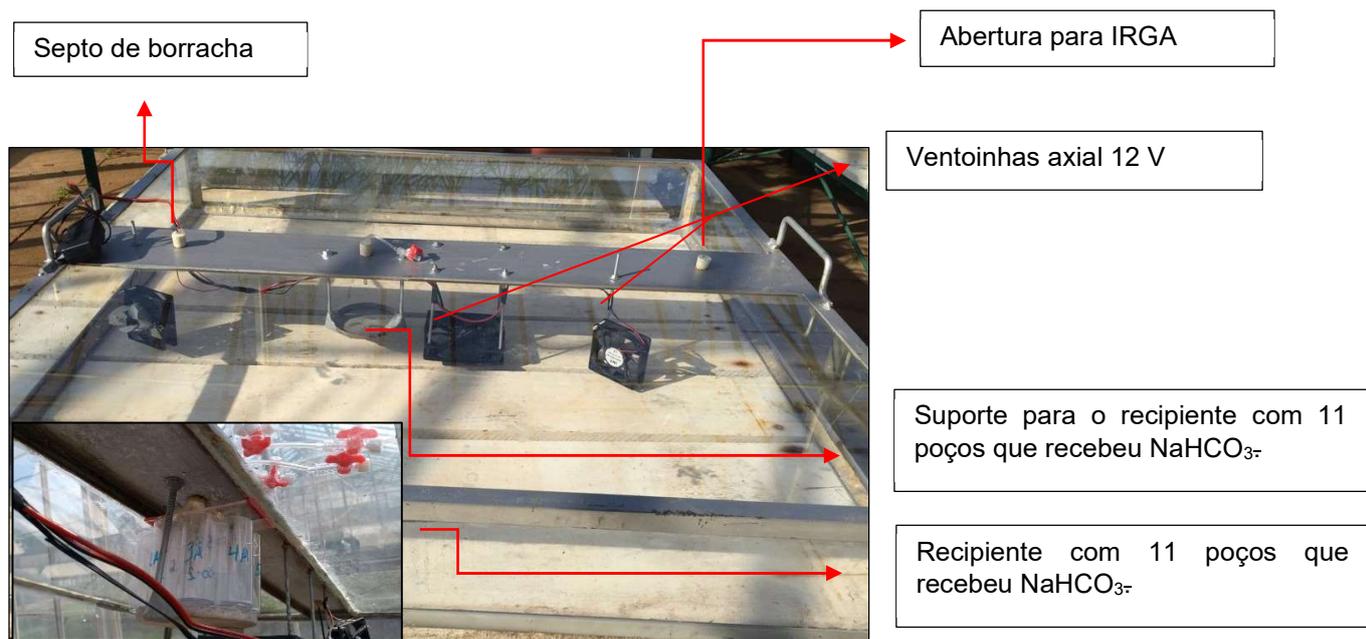
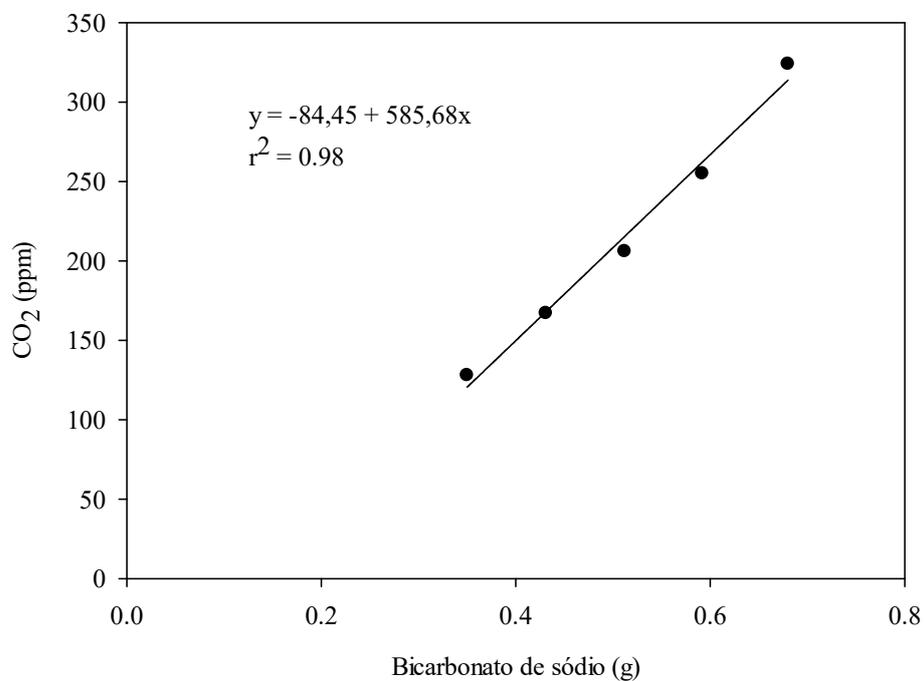
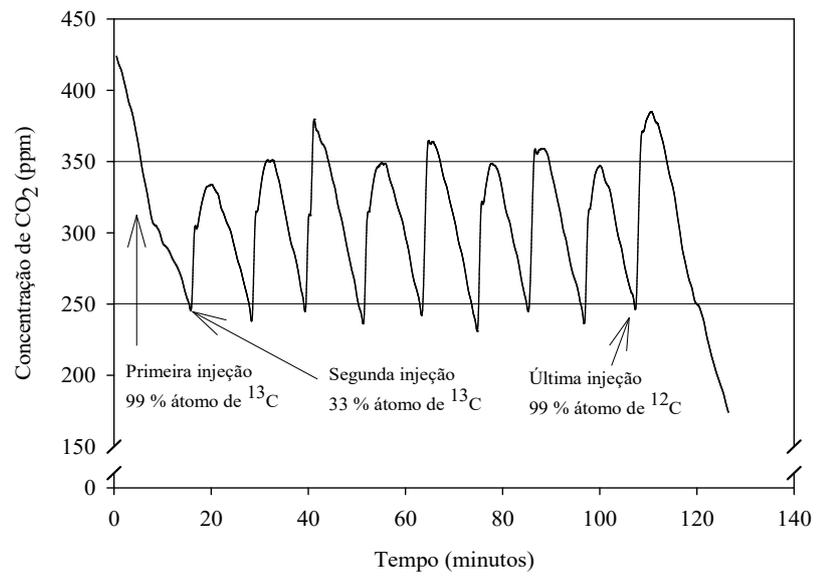


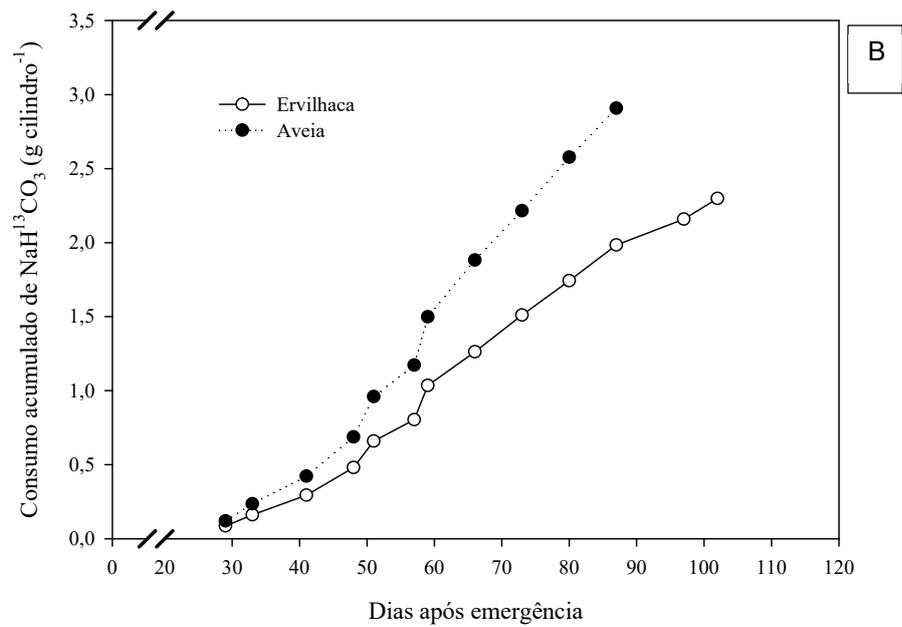
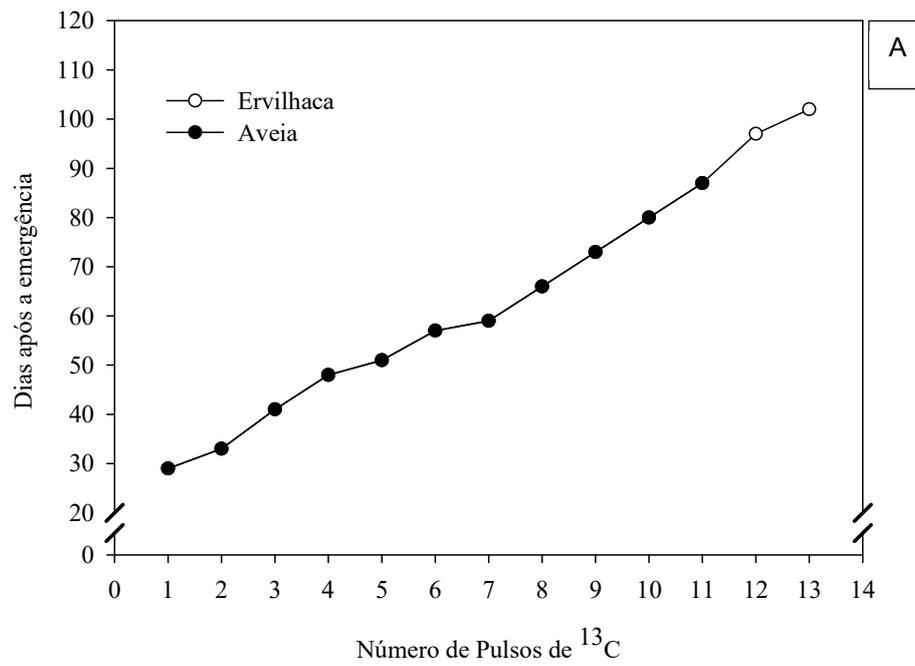
Figura 2. Detalhes da Tampa da câmara hermética utilizada para o enriquecimento das plantas com ^{13}C .



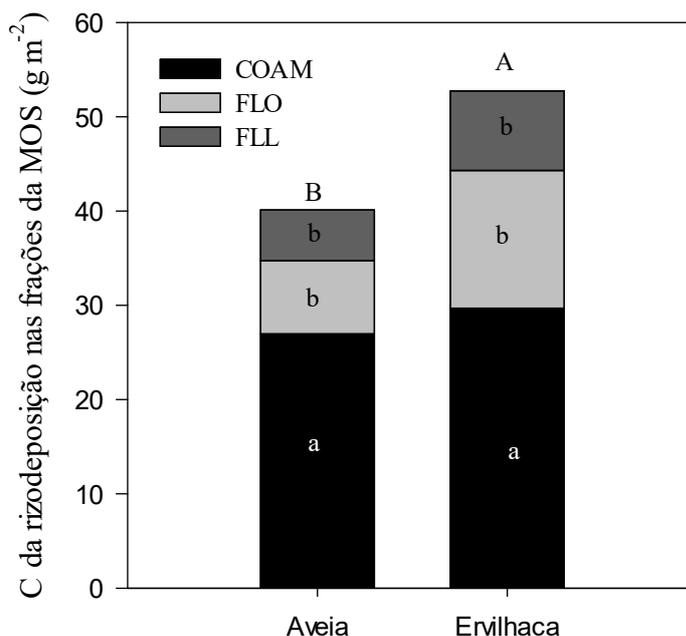
Curva de calibração para calcular a quantidade de bicarbonato de sódio a ser utilizado no enriquecimento.



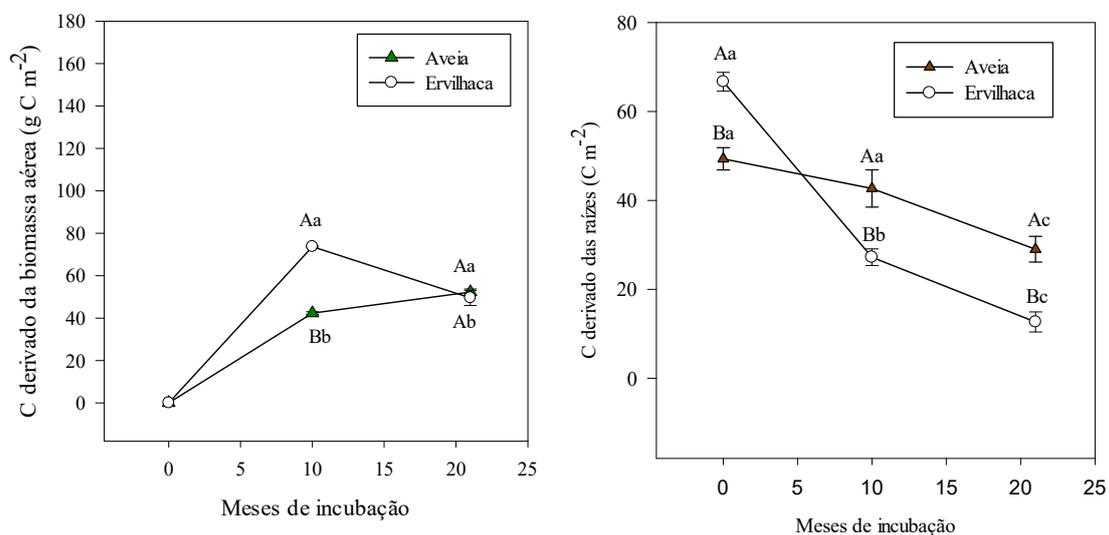
Concentração aparente de CO₂ durante um período de rotulagem mostrando o declínio inicial ao fechar a câmara, a primeira injeção de ¹³CO₂ altamente enriquecido (99% em átomos) e as injeções subsequentes de 33 % átomos ¹³CO₂.



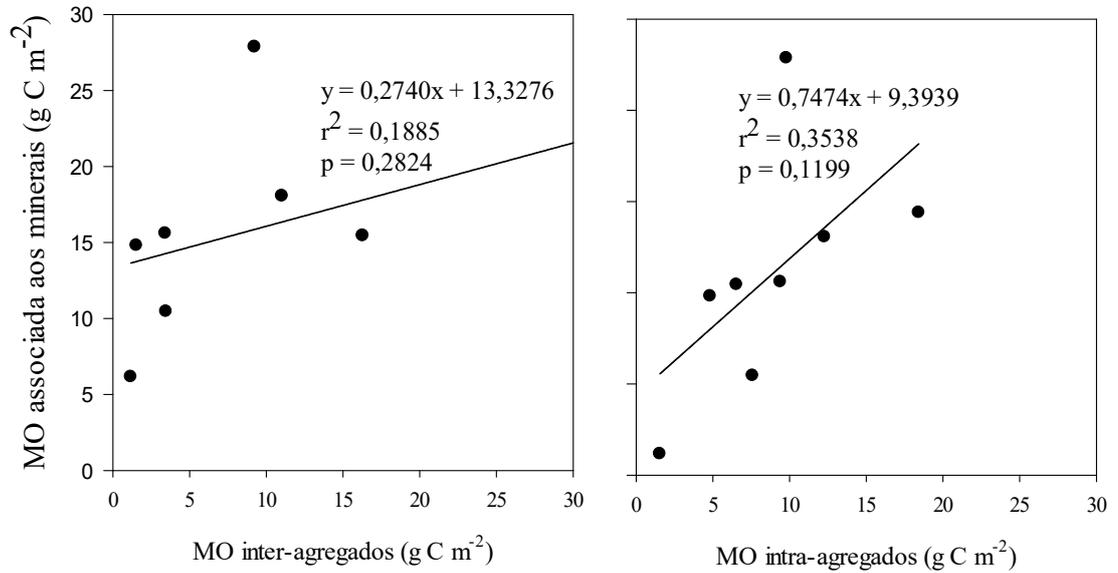
A) Número de pulsos de ^{13}C durante o cultivo da ervilhaca e aveia; B) Consumos acumulados de $\text{NaH}^{13}\text{CO}_3$ durante o crescimento da ervilhaca e aveia.



Carbono derivado da rizodeposição remanescente da aveia e ervilhaca entre as frações da MOS (FLL, FLO e COAM) na camada de 0-10 cm num Argissolo subtropical no Sul do Brasil em plantio direto. As letras maiúsculas comparam plantas (aveia e ervilhaca) e letras minúsculas comparam as frações da MOS. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). FLL: fração leve livre; FLO: fração leve oclusa; COAM: C orgânico associado aos minerais.



Carbono derivado da biomassa aérea (a) e das raízes da aveia e ervilhaca no tempo 0, 10 e 21 meses após a incubação à campo. As letras maiúsculas comparam plantas (aveia e ervilhaca) e letras minúsculas comparam o tempo. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).



Correlação entre a matéria orgânica associada aos minerais derivada da biomassa aérea e das raízes da aveia e ervilhaca com a fração da MO inter-agregados e MO intra-agregados aos 10 e 21 meses de incubação.

RESUMO BIOGRÁFICO

Jéssica Pereira de Souza, filha de Ademir Carlos de Souza e Maria Neusa P M Souza, irmã da Silmaria, Milene e Jeslane e tia da Débora, Vitoria e Samuel e cristã. Nasceu em 12 de abril de 1992, em Goiânia, Goiás. Estudou na escola de tempo integral CAIC até o nono ano do ensino fundamental e, posteriormente cursou o ensino médio integrado ao técnico em Gestão do Agronegócios no Instituto Federal do Tocantins, Palmas, Tocantins. Em 2011 ingressou UniCatólica em Palmas, Tocantins, graduando-se como Agrônoma em 2015. Em 2016 iniciou o mestrado em Ciências do solo na Universidade Federal do Paraná em Curitiba, Paraná sob orientação da professora Fabiane Machado Vezzani. No mestrado teve a oportunidade de estudar a ação da rotação de culturas na comunidade de bactérias e arqueias do solo. Em seguida (2018), iniciou o doutorado em Ciências do Solos nesta instituição sob orientação do professor Cimélio Bayer, onde teve oportunidade de quantificar a eficiência de estabilização do C derivado das raízes e biomassa aérea. Atualmente está no pós doutorado nesse mesmo grupo de pesquisa.