



DAVI SANTOS TAVARES

**MICROBIOTA DO SOLO, A FORÇA MOTRIZ PARA UMA
AGRICULTURA SUSTENTÁVEL EM SISTEMAS
INTEGRADOS DE PRODUÇÃO AGROPECUÁRIA:
PERSPECTIVAS SOBRE ESTRATÉGIAS DE ADUBAÇÃO
E DE PASTEJO NA SAÚDE DO SOLO E NA
PRODUTIVIDADE DA SOJA**

**LAVRAS – MG
2024**

DAVI SANTOS TAVARES

**MICROBIOTA DO SOLO, A FORÇA MOTRIZ PARA UMA AGRICULTURA
SUSTENTÁVEL EM SISTEMAS INTEGRADOS DE PRODUÇÃO
AGROPECUÁRIA: PERSPECTIVAS SOBRE ESTRATÉGIAS DE ADUBAÇÃO E DE
PASTEJO NA SAÚDE DO SOLO E NA PRODUTIVIDADE DA SOJA**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo área de concentração em biologia, microbiologia e processos biológicos do solo, para obtenção do título de Doutor.

Professor Doutor Marco Aurélio Carbone Carneiro
Orientador

Doutora Aline Oliveira Silva
Coorientadora

**LAVRAS – MG
2024**

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Tavares, Davi Santos.

Microbiota do solo, a força motriz para uma agricultura sustentável em sistemas integrados de produção agropecuária: Perspectivas sobre estratégias de adubação e de pastejo na saúde do solo e na produtividade da soja / Davi Santos Tavares. - 2024.
94 p. : il.

Orientador(a): Marco Aurélio Carbone Carneiro.

Coorientador(a): Aline Oliveira Silva.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2024.

Bibliografia.

1. Agricultura sustentável. 2. Diversidade microbiana. 3. Índice de saúde do solo. I. Carneiro, Marco Aurélio Carbone. II. Silva, Aline Oliveira. III. Título.

DAVI SANTOS TAVARES

**MICROBIOTA DO SOLO, A FORÇA MOTRIZ PARA UMA AGRICULTURA
SUSTENTÁVEL EM SISTEMAS INTEGRADOS DE PRODUÇÃO
AGROPECUÁRIA: PERSPECTIVAS SOBRE ESTRATÉGIAS DE ADUBAÇÃO E DE
PASTEJO NA SAÚDE DO SOLO E NA PRODUTIVIDADE DA SOJA**

**SOIL MICROBIOTA, THE DRIVING FORCE FOR SUSTAINABLE
AGRICULTURE IN INTEGRATED CROP-LIVESTOCK SYSTEMS: INSIGHTS ON
FERTILIZATION AND GRAZING STRATEGIES ON SOIL HEALTH AND SOYBEAN
PRODUCTIVITY**

Tese apresentada à Universidade Federal de
Lavras, como parte das exigências do Programa
de Pós-Graduação em Ciência do Solo área de
concentração em biologia, microbiologia e
processos biológicos do solo, para obtenção do
título de Doutor.

APROVADO em 27 de março de 2024

Ph.D. Tangriani Simioni Assmann

Ph.D. Diana Signor Deon

Ph.D. Marcio Renato Nunes

Ph.D. Teotônio Soares de Carvalho

UTFPR – PR/BR

EMBRAPA – PE/BR

UF – FLORIDA/USA

UFLA – MG/BR

Professor Ph.D. Marco Aurélio Carbone Carneiro
Orientador

Ph.D. Aline Oliveira Silva
Coorientadora

**LAVRAS – MG
2024**

*Aos meus pais: Bartolomeu e Damiana,
minhas irmãs: Bianca, Emanuela e Rafaela,
e meus sobrinhos: Lucas, Anna e Joaquina*

Eu dedico!

AGRADECIMENTOS

Não foi uma caminhada fácil! São um pouco mais que 15 anos na estrada, um pouco mais de 2500 km longe de casa, procurando melhorias. Nessa trajetória morei em três estados, quatro cidades e por tantas casas, que já perdi a conta.

O Doutorado foi mais um grande desafio em minha vida, principalmente por ter sido num período tão obscuro para o nosso País, onde vivemos uma tragédia descomunal, fruto de uma pandemia e do negacionismo, que deixou tantas vítimas.

Assim eu quero agradecer imensamente a Deus por ter conseguido, eu estou vivo! e sou Doutor!

Quero agradecer a minha família que é meu tudo, que me mostra a cada dia que temos que permanecer fortes e corajosos. Quero que saibam que a batalha não é fácil, e que o preço é muito caro, mas, a gente consegue! Pai, Mãe, Bianca, Emanuela, Rafaela, Lucas, Anna e Joaquina eu amo vocês!

Quero agradecer também a todas as pessoas maravilhosas que tropeçaram comigo nessa estrada ao ponto de desviarmos nossos caminhos e continuarmos lado-a-lado em laços fraternos de amizade, assim gostaria de citar Bruna, Rafael, Fernandes, Cheque, Jessyca, Tamires, Layane, Aline Oliveira, Aline Franco, Marcelo, Leticia e Rafaela vocês foram parte essencial dessa chegada!

Com muito carinho gostaria de agradecer meu orientador Marco Aurélio, a equipe de laboratório, a UFLA e aos órgãos de fomento à pesquisa CAPES, CNPq e FAPEMIG, que possibilitaram a realização desse sonho.

Gostaria de agradecer também aos Professores Paulo C. F. Carvalho, Edicarlos D. de Souza e seus colaboradores das instituições UFRGS, UFR e UFPR pela parceria e disponibilidade dos experimentos.

Os próximos desafios virão!

*"O mundo está nas mãos de quem ousa sonhar
e correr o risco de viver seus sonhos."*

Paulo Coelho

GENERAL ABSTRACT

The growing demand for food and the need to reduce environmental impact has posed significant challenges to modern agriculture. Therefore, it is essential to improve and implement more conservationist production systems. Integrated Agricultural Production Systems (ICLS) emerge as a promising approach to optimize agricultural production, sustain ecosystems, and promote soil health. Simple changes to management practices within these systems can further benefit soil quality and profitability. Therefore, the objective of this thesis, based on two studies, is to evaluate how different fertilization strategies (Experiment 1) and grazing intensities (Experiment 2) can change soil quality, productivity, and profitability of the system. For this, soil was collected in the cropping phase (soybean, 2021/2022 harvest) from two ICLS experimental protocols (Soybeans in the summer followed by pasture with cattle grazing). The study on fertilization strategies was implemented in Rondonópolis – MT in 2019, it consists of a factorial scheme with two times of fertilization with P and K: in soybeans (Conventional - CF) or in the pasture (System - SF), and two nitrogen fertilization conditions in the pasture: with (+N) or without (-N). The study on grazing intensities was started in São Miguel das Missões – RS in 2001. This experiment comprises four treatments that differ in grazing height (10, 20, 30, and 40 cm), in addition to a control treatment without animal grazing. In these experiments, we analyzed biochemical (enzymatic activity), chemical (carbon and nutrient content), and biological attributes of the soil (microbial respiration, 16S gene, and ITS, network analyses), in addition to soybean grain productivity, forage, and profitability. The study of fertilization strategies demonstrates that system fertilization management (SF), with (+N) and without nitrogen fertilization (-N), increases soil microbial and enzymatic activity, available P content, accumulation of forage, stocking rate and animal weight gain, providing greater profitability for ICLS. Conventional fertilization without nitrogen (CF-N) reduces the chemical and biochemical quality of the soil, resulting in an increase in qCO_2 and a decrease in the system's productivity. In both fertilizer management (CF and SF), adding +N in the pasture phase increased grain productivity. However, the highest profitability of ICLS was observed in SF+N, demonstrating that simple management practices can boost agricultural sustainability. The study of grazing intensities demonstrated that the integration of the animal component and the regulation of grazing practices at heights between 20 and 40 cm not only benefits soil health but also positively influences soybean productivity, with a height of 36 cm as the ideal time to achieve such benefits. Furthermore, it was observed that the animal component at a grazing intensity of 30 cm boosted the microbial communities of the soybean rhizosphere, demonstrating how these factors affect soil quality and, consequently, agricultural productivity. These findings have significant implications for improving responsible agriculture, highlighting the importance of production systems that sustainably intensify agricultural and livestock activities.

KEYWORDS: Sustainable agriculture. Soil biochemistry. Agricultural optimization. Microbial diversity. Soil quality index.

RESUMO GERAL

A crescente demanda por alimentos e a necessidade de redução do impacto ambiental têm imposto desafios significativos à agricultura moderna. Desta forma, é imprescindível o aprimoramento e a implantação de sistemas de produção mais conservacionistas. Os Sistemas Integrados de Produção Agropecuária (SIPA) emergem como uma abordagem promissora para otimizar a produção agrícola, sustentar os ecossistemas e promover a saúde do solo. Alterações simples em práticas de manejo dentro destes sistemas podem vir a beneficiar ainda mais a qualidade do solo e a lucratividade. Desta forma, é objetivo desta tese a partir de dois estudos avaliar como diferentes estratégias de adubação (Experimento 1) e diferentes intensidades de pastejo (Experimento 2) podem alterar a qualidade do solo, a produtividade e lucratividade do sistema. Para isso, foram coletados solo na fase lavoura (soja, safra 2021/2022) de dois protocolos experimentais de SIPA (Soja no verão seguido de pastagem com pastejo de bovinos). O estudo sobre estratégias de adubação foi implantado em Rondonópolis – MT em 2019, ele é composto por um esquema fatorial com duas épocas de fertilização com P e K: na soja (Convencional - CF) ou no pasto (Sistema - SF), e duas condições de fertilização nitrogenada no pasto: com (+N) ou sem (-N). Já o estudo sobre intensidades de pastejo foi iniciado em São Miguel das Missões – RS em 2001. Esse experimento compreende quatro tratamentos que diferem em altura de pastejo (10, 20, 30 e 40 cm), além de um tratamento de controle sem pastejo animal. Neles foram analisados atributos bioquímicos (atividade enzimática), químicos (teor de carbono e de nutrientes) e biológicos do solo (respiração microbiana, gene 16S e ITS, análises de rede de coocorrência), além da produtividade de grãos da soja, de forragem e análise de lucratividade do sistema. O estudo de estratégias de adubação demonstra que o manejo da fertilização do sistema (SF), com (+N) e sem a adubação nitrogenada (-N), aumentam a atividade microbiana e enzimática do solo, o teor de P disponível, o acúmulo de forragem, a taxa de lotação e o ganho de peso dos animais, proporcionando maior rentabilidade ao SIPA. A adubação convencional sem nitrogênio (CF-N) reduz a qualidade química e bioquímica do solo, resultando no aumento do qCO_2 e na diminuição da produtividade do sistema. Em ambos os manejos de fertilizantes (CF e SF) a adição de +N na fase de pastagem proporcionou aumento na produtividade de grãos. Contudo, a maior rentabilidade do SIPA foi observada no SF+N, demonstrando que práticas simples de manejo podem impulsionar a sustentabilidade agrícola. O estudo de intensidades de pastejo demonstrou que a integração do componente animal e a regulação da prática do pastejo em alturas entre 20 e 40 cm não apenas beneficia a saúde do solo, mas também influencia positivamente a produtividade da soja, sendo a faixa entre 26 e 32 cm a ideal para alcançar tais benefícios. Além disso, foi observado que o componente animal na intensidade de pastejo de 30 cm impulsionou as comunidades microbianas da rizosfera da soja, demonstrando como esses fatores afetam a qualidade do solo e, conseqüentemente, a produtividade agrícola. Esses achados têm implicações significativas para o aprimoramento da agricultura responsável, destacando a importância de sistemas de produção que intensificam a atividade agrícola e pecuária de forma sustentável.

PALAVRAS-CHAVE: Agricultura sustentável. Bioquímica do solo. Otimização agropecuária. Diversidade microbiana. Índice de saúde do solo.

INDICADORES DE IMPACTO

O presente trabalho apresenta impactos sociais, econômicos e ambientais, com área temática em meio ambiente e propõe o alcance de cinco dos 17 objetivos de desenvolvimento sustentável propostos pela ONU, sendo eles: Erradicação da pobreza; Fome zero e agricultura sustentável; Trabalho decente e crescimento econômico; Consumo e produção responsáveis; Ação contra a mudança global do clima.

SUMÁRIO

PRIMEIRA PARTE	12
1. INTRODUÇÃO GERAL	12
2. OBJETIVO GERAL	15
3. HIPÓTESES GERAIS	16
4. SEGUNDA PARTE – ARTIGOS	20
5. ARTIGO 1: SYSTEM FERTILIZATION IN INTEGRATED CROP-LIVESTOCK MANAGEMENT FAVORS MICROBIAL PROCESSES, SOIL QUALITY AND PRODUCTION PROFITABILITY	20
5.1. INTRODUCTION	21
5.2. MATERIAL AND METHODS	23
5.2.1. Experimental location	23
5.2.2. Experimental design	24
5.2.3. Description of the experiment	24
5.2.4. Sampling Soil	25
5.2.4.1. Soil biochemical attributes	25
5.2.4.2. Soil chemical attributes	26
5.2.5. Productivity Attributes	26
5.2.5.1. Forage accumulation (FA)	26
5.2.5.2. Animal Stocking Rate (SR)	27
5.2.5.3. Animal weight gain (AWG)	27
5.2.5.4. Soybean productivity (GP)	27
5.2.6. Descriptive profitability analysis	27
5.2.7. Statistical analysis	28
5.3. RESULTS	28
5.3.1. Soil biochemical and chemical attributes	28
5.3.2. Correlation and principal components analysis	32

5.3.3. Profitability analysis	34
5.4. DISCUSSION.....	35
5.5. CONCLUSIONS	38
6. ARTIGO 2: IMPACTO DA ALTURA DE PASTEJO EM SISTEMA INTEGRADO DE PRODUÇÃO AGROPECUÁRIA NA SAÚDE DO SOLO, RENDIMENTO DA CULTURA E NA COMUNIDADE MICROBIANA DA RIZOSFERA	45
6.1. INTRODUÇÃO.....	46
6.2. MATERIAIS E METODOS.....	48
6.2.1. Descrição da área e design experimental.....	48
6.2.2. Amostragem do solo	50
6.2.3. Indicadores de saúde do solo	51
6.2.3.1. Análises químicas e físicas do solo	51
6.2.3.2. Análises bioquímicas do solo	51
6.2.4. Índice de saúde do solo.....	51
6.2.5. Comunidade microbiana.....	53
6.2.6. Indicadores de produtividade	54
6.2.7. Análises estatísticas	55
6.3. RESULTADOS	56
6.3.1. Índice de saúde do solo (ISS) e produtividade	56
6.3.2. Análise da comunidade microbiana.....	58
6.4. DISCUSSÃO.....	65
6.4.1. Saúde do solo e produtividade.....	65
6.4.2. Comunidade microbiana da rizosfera da soja.....	67
6.5. CONCLUSÃO.....	70
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS	78
MATERIAL SUPLEMENTAR	80
ARTIGO 1	80
ARTIGO 2	83

PRIMEIRA PARTE

1. INTRODUÇÃO GERAL

A interseção entre práticas agrícolas e a gestão pecuária é o cerne dos sistemas integrados de produção agropecuária (SIPA), a alternância destas atividades na mesma área oferece uma sinergia capaz de aumentar a produtividade por unidade de área, enquanto reforça os serviços ecossistêmicos essenciais, como a ciclagem de nutrientes, a fertilidade do solo, sequestro de carbono, diversidade biológica e resiliência dos agroecossistemas (CARVALHO *et al.*, 2018; BERNARDON *et al.*, 2021). A prática do SIPA tem evoluído ao longo do tempo e ganhado ampla adoção no Brasil, onde já se expande por mais de 17 milhões de hectares (POLIDORO, *et al.*, 2021), e em diversas regiões do mundo, incluindo a África Subsaariana, a Ásia (DUNCAN *et al.*, 2013; MABHAUDHI; CHIBARABADA; SIKKA, 2023), a China (BAO; WU; BAO, 2024), os Estados Unidos da América (POLAT *et al.*, 2020), a Europa Ocidental (SCHUT *et al.*, 2021) e outros países da América do Sul (CARVALHO *et al.*, 2021). O Brasil também se destaca por ser o país que lidera as pesquisas sobre SIPA em nível mundial (Figura G1). Porém, algumas lacunas sobre o papel da microbiota do solo nestes sistemas ainda precisam ser elucidadas.

A microbiota é a força motriz que rege e medeia as inúmeras transformações que ocorrem nos diferentes componentes deste sistema (Lavoura, Pastagem, Solo, Animal, Água e Atmosfera), como: decomposição da palhada, formação de matéria orgânica, participação dos ciclos biogeoquímicos dos nutrientes, fixação biológica do N₂ atmosférico, liberação de ácidos orgânicos, solubilização de nutrientes, mineralização de nutrientes no solo, promoção do crescimento vegetal, proteção contra patógenos, complexação de xenobióticos, entre outros (ABDELMONEIM *et al.*, 2023; NADARAJAH; ABDUL RAHMAN, 2023). Assim, compreender a dinâmica desses microrganismos, como o manejo conservacionista pode impactá-los, e quais práticas dentro destes sistemas podem otimizar o funcionamento biológico do solo é essencial para um modelo de produção mais sustentável, eficiente e lucrativo. Além disso, a microbiota do solo desempenha um papel central na qualidade do solo, por ser mediadora de inúmeros processos ecossistêmicos. Suas atividades e funções influenciam diretamente na saúde dos sistemas produtivos. Por isso, a mensuração da saúde do solo por meio do uso de indicadores microbiológicos é uma forma bastante eficaz para determinar a adoção de manejos mais produtivos, lucrativos e sustentáveis. A saúde do solo pode ser definida como a capacidade contínua de um solo funcionar como um ecossistema vivo que sustenta a produtividade

biológica, mantém a qualidade ambiental e promove a saúde vegetal e animal (SHEN; TENG, 2023). Esse conceito é um aprimoramento da definição de qualidade do solo que foi proposto por Doran e Parkin (1994), mas destacando o papel do solo dentro desse ambiente vivo e que medeia a saúde, complementando ao conceito de “One Health” (BANERJEE; VAN DER HEIJDEN, 2023).

A agricultura moderna é extremamente dependente de fertilizantes químicos (CALABI-FLOODY *et al.*, 2018). Porém, é uma prática associada a uma elevada emissão de gases de efeito estufa na atmosfera, devido o gasto energético nas fases de extração, produção e transporte. Todavia a escolha do fertilizante e o modo de aplicação podem ser a chave para o aumento da eficiência de seu uso (WANG *et al.*, 2017). A adubação adequada é essencial para fornecer os nutrientes necessários às plantas e manter a fertilidade do solo. No entanto, estudos recentes destacam que apenas fornecer nutrientes não é suficiente para maximizar a produtividade e qualidade das culturas (LI *et al.*, 2022; NADARAJAH; ABDUL RAHMAN, 2023; SACHET *et al.*, 2023). Cada vez mais estamos compreendendo que a interação entre os nutrientes disponíveis no solo e a microbiota é crucial para o sucesso da adubação e aumento da eficiência da máquina biológica do solo (SABIR *et al.*, 2021). A utilização de fertilizantes químicos exerce uma influência significativa na microbiota do solo, por um lado, a aplicação pode estimular o crescimento da biomassa microbiana, fornecendo nutrientes no momento adequado para sua multiplicação, o que acarreta no aumento da liberação de exo-enzimas, decomposição de resíduos orgânicos, estoque de carbono e disponibilidade de nutrientes para as plantas (ALLISON; VITOUSEK, 2005; SABIR *et al.*, 2021). Porém, por outro lado, doses excessivas ou no momento inadequado podem desequilibrar populações microbianas, afetando a relação entre os microrganismos, a disponibilidade de nutrientes e a resiliência do agroecossistema (DINCA *et al.*, 2022). Assim, é crucial adotar estratégias de adubação que levem em consideração não apenas as necessidades das plantas, mas também o equilíbrio ecológico do solo, visando a preservação e o fortalecimento da microbiota para garantir a saúde a longo prazo dos ecossistemas agrícolas.

Outra prática simples que pode ser otimizada nos sistemas conservacionistas mistos é a regulação da intensidade ótima de pastejo pelos animais. O componente animal em SIPA tem sido associado ao acúmulo de serrapilheira e ao estímulo da microbiota do solo (HASSAN *et al.*, 2021), além de regular o crescimento vegetal e a disponibilidade de palhada (KUNRATH *et al.*, 2020). O microbioma associado aos animais também catalisa transformações bioquímicas na pastagem, inocula e condiciona o solo através da deposição de excretas ricas em carbono, nitrogênio e microrganismos (ATTWOOD *et al.*, 2019; BANERJEE; VAN DER HEIJDEN, 2023). Atrelado a isso, o ato do pastejo estimula o crescimento e exsudação radicular das

culturas, favorecendo tanto a absorção e ciclagem de nutrientes, quanto o aumento da tolerância a estresses abióticos nas plantas (ZHAO *et al.*, 2022). Entretanto, altas intensidades de pastejo podem acarretar degradação do solo, por ocasionar redução na cobertura vegetal, aumento na compactação e possibilidade de erosão, com perdas significativas de solo, impactando negativamente a produção agropecuária (BYRNES *et al.*, 2018; DENG *et al.*, 2023). Assim, é crucial estabelecer um limiar adequado para manter a produção agrícola e pecuária, bem como a qualidade ambiental, visando um modelo de produção responsável e sustentável.

A utilização de indicadores bioquímicos, ferramentas moleculares e índices de saúde do solo e de produtividade podem permitir o monitoramento mais preciso da microbiota do solo em resposta às práticas agrícolas, ajudando a identificar padrões e tendências que orientem a seleção e o manejo de fertilizantes e intensidade de pastejo adequados.

Essas abordagens têm o potencial de contribuir significativamente para o desenvolvimento de sistemas agrícolas mais eficientes e sustentáveis, alinhados com os objetivos de desenvolvimento sustentável proposto pela Organização das Nações Unidas (<https://sdgs.un.org/goals>). E assim proporcionar maior entendimento do funcionamento ecológico do solo em manejos que permitem a intensificação da produção agropecuária de forma sustentável, incrementando a saúde do solo e a lucratividade do sistema. Desta forma, é objetivo desta tese a partir de dois estudos identificar qual estratégia de adubação (Experimento 1) e de intensidades de pastejo (Experimento 2) beneficia a qualidade do solo, a produtividade e lucratividade do sistema.

2. OBJETIVO GERAL

Identificar quais as práticas do manejo de adubação e de pastejo beneficiam a saúde do solo e a produtividade em sistemas integrados de produção agropecuária.

3. HIPÓTESES GERAIS

- A adubação de sistema aumenta a atividade biológica e a conservação de nutrientes, resultando em maior qualidade do solo, produtividade e lucratividade do SIPA;
- A presença do componente animal e a regulação do pastejo em altura moderada resulta em saúde do solo, aumento da diversidade e abundância da comunidade microbiana na rizosfera da soja e produtividade de grãos em SIPA.

REFERÊNCIAS

- ABDELMONEIM, Taghreed Khaled et al. Development of rapid and precise approach for quantification of bacterial taxa correlated with soil health. *Frontiers in Microbiology*, [s. l.], v. 13, n. January, p. 1–14, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1095045>
- ALLISON, S. D.; VITOUSEK, P. M. Responses of extracellular enzymes to simple and complex nutrient inputs. *Soil Biology and Biochemistry*, [s. l.], v. 37, p. 937–944, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2004.09.014>
- ATTWOOD, Graeme T. et al. Applications of the soil, plant and rumen microbiomes in pastoral agriculture. *Frontiers in Nutrition*, [s. l.], v. 6, n. July, p. 1–17, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fnut.2019.00107>
- BANERJEE, S.; VAN DER HEIJDEN, M. G.A. Soil microbiomes and one health. *Nature Reviews Microbiology*, [s. l.], v. 21, n. 1, p. 6–20, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41579-022-00779-w>
- BAO, W.; WU, Y.; BAO, H. Transaction costs, crop-livestock integration participation, and income effects in China. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, [s. l.], v. 7, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fsufs.2023.1247770>
- BANERJEE, S.; VAN DER HEIJDEN, M. G.A. Soil microbiomes and one health. *Nature Reviews Microbiology*, [s. l.], v. 21, n. 1, p. 6–20, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41579-022-00779-w>
- BERNARDON, Angela et al. Carryover of N-fertilization from corn to pasture in an integrated crop-livestock system. [S. l.]: Taylor & Francis, 2021. ISSN 14763567.v. 67 Disponível em: <https://doi.org/10.1080/03650340.2020.1749268>
- BYRNES, Ryan C. et al. A Global Meta-Analysis of Grazing Impacts on Soil Health Indicators. *Journal of Environmental Quality*, [s. l.], v. 47, n. 4, p. 758–765, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.2134/jeq2017.08.0313>
- CALABI-FLOODY, Marcela et al. Smart Fertilizers as a Strategy for Sustainable Agriculture. *Advances in Agronomy*, [s. l.], v. 147, n. 45, p. 119–157, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/bs.agron.2017.10.003>
- CARVALHO, Paulo Cesar de Faccio et al. Land-Use Intensification Trends In The Rio De La Plata Region Of South America: Toward Specialization Or Recoupling Crop And Livestock Production. *Frontiers of Agricultural Science and Engineering*, [s. l.], v. 8, n. 1, p. 97–110, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.15302/J-FASE-2020380>
- CARVALHO, Paulo César de Faccio et al. Integrating the pastoral component in agricultural systems. *Revista Brasileira de Zootecnia*, [s. l.], 2018.
- DENG, Lei et al. Carbon in Chinese grasslands: meta-analysis and theory of grazing effects. *Carbon Research*, [s. l.], v. 2, n. 1, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s44246-023-00051-7>

DINCA, lucian Constantin et al. Fertilization and Soil Microbial Community: A Review. *applied sciences*, [s. l.], v. 12, p. 1–20, 2022.

DORAN, John W; PARKIN, Timothy B. Defining and assessing soil quality. Defining soil quality for a sustainable environment. USA: SSSA Special Publication, [s. l.], v. 35, n. 35, p. 1–21, 1994.

DUNCAN, A. J. et al. Integrated crop-livestock systems - A key to sustainable intensification in Africa. *Tropical Grasslands-Forrajes Tropicales*, [s. l.], v. 1, n. 2, p. 202–206, 2013. Disponível em: [https://doi.org/10.17138/TGFT\(1\)202-206](https://doi.org/10.17138/TGFT(1)202-206)

HASSAN, Nazim et al. Effects and mechanism of plant litter on grassland ecosystem: A review. *Acta Ecologica Sinica*, [s. l.], v. 41, n. 4, p. 341–345, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.CHNAES.2021.02.006>

KUNRATH, Taise Robinson et al. Sward height determines pasture production and animal performance in a long-term soybean-beef cattle integrated system. *Agricultural Systems*, [s. l.], v. 177, n. September 2019, p. 102716, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.agsy.2019.102716>

LI, Shuo et al. Improving long-term crop productivity and soil quality through integrated straw-return and tillage strategies. *Agronomy Journal*, [s. l.], n. July 2021, p. 1500–1511, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/agj2.20831>

MABHAUDHI, T.; CHIBARABADA, T. P.; SIKKA, A. Status of integrated crop-livestock research in the mixed farming systems of the Global South: a scoping study. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, [s. l.], v. 7, n. September, p. 1–14, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fsufs.2023.1241675>

NADARAJAH, K.; ABDUL RAHMAN, N. S. N. The Microbial Connection to Sustainable Agriculture. *Plants*, [s. l.], v. 12, n. 12, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/plants12122307>

POLAT, Atilla et al. On-farm assessment of soil quality in low and high grazing under integrated crop-livestock system in south Dakota. *Tarim Bilimleri Dergisi*, [s. l.], v. 26, n. 4, p. 434–441, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.15832/ankutbd.557832>

POLIDORO, J. C., DE FREITAS, P. L., HERNANI, L. C., ANJOS, L. H. C. D., RODRIGUES, R. D. A. R., CESÁRIO, F. V., ... & RIBEIRO, J. L. Potential impact of plans and policies based on the principles of conservation agriculture on the control of soil erosion in Brazil. *Land Degradation & Development*, 32(12), 3457–3468. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/ldr.3876>

SABIR, Muhammad Shehryar et al. Comparative Effect of Fertilization Practices on Soil Microbial Diversity and Activity: An Overview. *Current Microbiology*, [s. l.], v. 78, n. 10, p. 3644–3655, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00284-021-02634-2>

SACHET, D. O.; AL-TEMEME, M. S. O.; HUSSAIN, M. A. Comparative Study of the Effect of Biological and Chemical Fertilization on some Growth Characteristics of Wheat

Crop *Triticum aestivum* Comparative Study of the Effect of Biological and Chemical Fertilization on some Growth Characteristics of Wheat Crop T. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, [s. l.], v. 1158, n. 2, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1088/1755-1315/1158/2/022022>

SCHUT, Antonius G.T. et al. Reintegration Of Crop-Livestock Systems In Europe: An Overview. Frontiers of Agricultural Science and Engineering, [s. l.], v. 8, n. 1, p. 111–129, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.15302/J-FASE-2020373>

SHEN, Ren Fang; TENG, Ying. The frontier of soil science: Soil health. Pedosphere, [s. l.], v. 33, n. 1, p. 6–7, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.pedsph.2022.06.007>

WANG, Zhan-biao et al. Comparison of greenhouse gas emissions of chemical fertilizer types in China's crop production. Journal of Cleaner Production, [s. l.], v. 141, n. 2017, p. 1267–1274, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2016.09.120>

ZHAO, Yan et al. Rhizosphere Moderate grazing increases newly assimilated carbon allocation belowground. Rhizosphere, [s. l.], v. 22, n. March, p. 100547, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2022.100547>

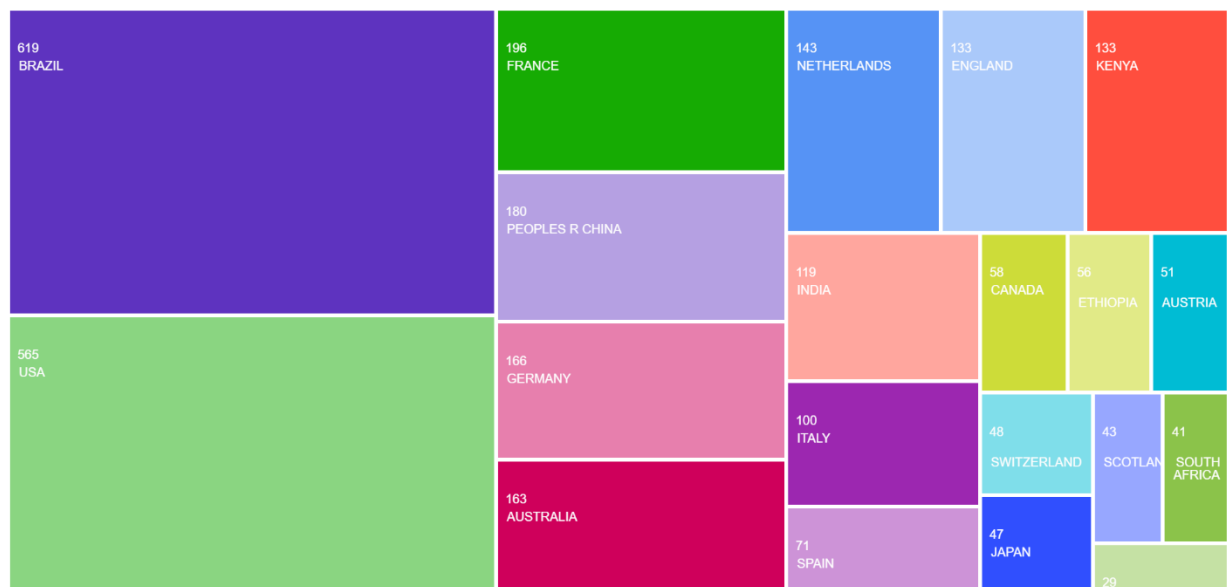


Figura G 1. Filtragem por país da pesquisa sobre “*Integrated crop-livestock system*” na plataforma Web of Science em 19 de fevereiro de 2024 (<https://www-webofscience.ez26.periodicos.capes.gov.br/wos/woscc/analyze-results/f29909ea-497c-4b90-87bf-73e5bcaa9ecd-cd1168f3>).

4. SEGUNDA PARTE – ARTIGOS

5. ARTIGO 1: SYSTEM FERTILIZATION IN INTEGRATED CROP-LIVESTOCK MANAGEMENT FAVORS MICROBIAL PROCESSES, SOIL QUALITY AND PRODUCTION PROFITABILITY

Davi Santos Tavares¹, Aline de Jesus Franco¹, Jessyca Adriana Gomes Florêncio da Silva¹, Tamires Rodrigues dos Reis¹, Maria Clara Soares¹, Layane Aparecida Mendes dos Santos¹, Gabriela Castro Pires³, Sandra Maria Monteiro de Araújo Souza³, Luiz Guilherme Santos de Oliveira², Aline Oliveira Silva¹, Leandro Pereira Pacheco², Edicarlos Damacena de Souza², Marco Aurélio Carbone Carneiro¹

¹ Federal University of Lavras, Department of Soil Science, 37200-900 Lavras, Minas Gerais, Brazil

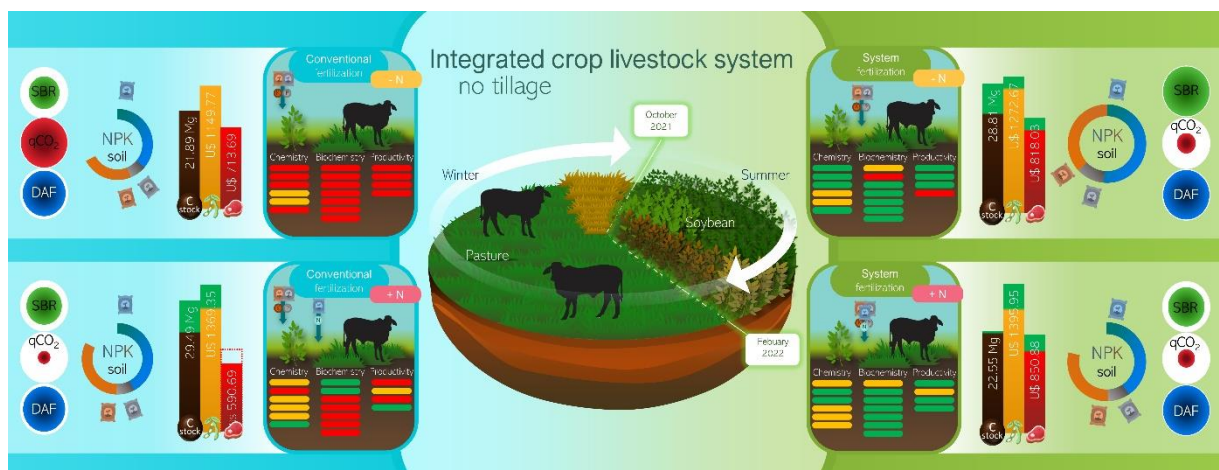
² Federal University of Rondonópolis, Rondonópolis, Mato Grosso, Brazil

³ Federal University of Paraná, Curitiba, Paraná, Brazil

*O presente artigo está apresentado no modelo de submissão da revista Agriculture, Ecosystems & Environment onde está em processo de revisão sob o número AGEE40373.

HIGHLIGHT

- System fertilization strategies enhance Soil Health;
- Integrating soil quality, productivity, and profitability in farming;
- Microbial processes drive soil quality in Crop-Livestock;
- Anticipated fertilization yields profitable agroecosystems.



ABSTRACT

Integrated crop-livestock systems with no tillage (ICLS-NT) have emerged as more responsible modes of production. Different fertilization strategies can optimize the productivity and profitability of ICLS-NT. However, it is necessary to understand how these strategies can change soil quality. This study aimed to investigate how different fertilization strategies within the ICLS-NT impact the biochemical and chemical attributes of the soil, as well as the productivity and profitability of the system. An ICLS-NT experiment was conducted with beef cattle grazing in winter and soybean cultivation in summer, structured in a 2x2 factorial arrangement. The first factor was the timing of fertilization: Conventional Fertilization (FC - application of phosphorus and potassium during soybean sowing), and System Fertilization (FS - application of phosphorus and potassium in pasture). The second factor was the application of nitrogen to the pasture: with application (+N) or without application (-N), resulting in four treatments distributed in three blocks. The timing of fertilization significantly influenced biochemical and soil chemical quality and productivity. SF+N and SF-N showed greater biochemical activity, nutrient availability, forage accumulation, increased animal stocking, increased animal weight gain. SF+N also provided an increase of 438 kg in soybean grain productivity, which added to profits from animal production culminating in 383.37 US\$ ha⁻¹ of net income over the reference treatment (CF-N). The findings highlight that applying fertilizers after the crop phase is an effective strategy for replenishing soil nutrients, activating microbial processes and improving soil quality. This approach means a more sustainable agricultural practice, reducing environmental impact and at the same time reinforcing profitability in integrated agricultural-livestock production systems.

KEYWORDS: Efficient fertilization. Microbiological activity. Responsible agricultural production. Ecosystem services. Integrated crop-livestock system.

5.1. INTRODUCTION

Integrated crop-livestock systems in no tillage (ICLS-NT) have emerged as main examples of responsible production methods (CARVALHO *et al.*, 2018; VALANI *et al.*, 2021; MOOJEN *et al.*, 2022). These systems not only minimize environmental impact but also drive the growth of sustainable agriculture (BERNARDON *et al.*, 2021; DELANDMETER *et al.*, 2023). In this production model, land use is optimized to ensure maximum productivity and profitability, covering both grain production and livestock, in addition to focusing on soil coverage and preservation (AMBUS *et al.*, 2023; LEMAIRE *et al.*, 2014). However, as land

use intensifies, the demand for inputs and technologies may increase. Consequently, several studies have investigated how to improve each component of the system. For example, research has already been done on the optimal grazing intensity (NUNES *et al.*, 2019); the use of different animal species (ALVES *et al.*, 2020); the implementation of different cover crops (FRANCO *et al.*, 2020); and different fertilization strategies (SIMÕES *et al.*, 2023). Nevertheless, there are gaps in the integration of data on the biological quality of the soil and indicators of system profitability.

Fertilizers are essential inputs in agricultural production, with NPK sources being widely used in various cultures, from the Green Revolution to modern agriculture (CALABI-FLOODY *et al.*, 2018). However, increasing the efficiency of chemical fertilizer use and maximizing soil microbial processes is critical to achieving more sustainable yields. In this way, the system fertilizer strategy was developed. The system's fertilization concept is that fertilizer must be applied in the phase of lower export and greater capacity for biological nutrient cycling, to maximize total crops production in rotational systems with animal integration (FARIAS *et al.*, 2020), seeking maximum efficiency of nutrient use, reducing inputs of chemical fertilizers, avoiding losses and maintaining soil fertility in the long term (Assmann *et al.*, 2017).

The System fertilization under ICLS-NT can promote the conservation of nutrients within the agroecosystem through the influx and deposition of various organic residues, both on the soil surface and in the subsoil, including plant biomass, animal waste, roots, and exudates. However, achieving this response requires the activation of the soil's biological functionality, particularly the processes associated with its fertility, such as nutrient and energy cycling, and carbon storage (DALE; POLASKY, 2007; RAZA *et al.*, 2023). Both functions are closely associated with soil microbial processes, such as the decomposition of organic residues, mineralization, and immobilization (GENTRY *et al.*, 2021). For this, the biological activity of the soil is the preponderant factor for the transfer of nutrients between crops involved in the rotation. This approach the System fertilization, as opposed to fertilization during the crop phase (conventional fertilization), can promote greater pasture productivity, subsequently impacting animal production (FARIAS *et al.*, 2020). However, it is still necessary to investigate its effect on soil health.

The microbial community is mainly responsible for carrying out these processes, which are measured through different attributes, such as biomass and microbial respiration, enzymatic activities, and carbon stock (RAZA *et al.*, 2023). These are sensitive indicators for evaluating soil quality, which have already been quantified under various conditions, such as regenerative agriculture and forestry management, and the recovery of degraded areas (BARBOSA *et al.*, 2023; BATISTA *et al.*, 2022; NADARAJAH; ABDUL RAHMAN, 2023; OLIVEIRA SILVA

et al., 2018). An important bottleneck for modern agriculture is resource optimization. Given this scenario, the challenge is to understand which agricultural practices help to obtain a diverse and functional microbial community, in addition to improving the quality of the soil and the products of its activities.

The exploration of techniques that can further optimize the efficiency of the ICLS-NT and reduce costs becomes imperative given the need for greater food production, the rapid expansion of degraded pasture areas, deforestation, and the actual contribution of agriculture to climate change, as recommended by the UN Sustainable Development Goals (<https://sdgs.un.org/goals>). Therefore, the hypothesis tested in this study is that the adoption of system fertilization optimizes microbial processes and the conservation of nutrients in the soil, which reflects on soil quality, productivity, and profitability of ICLS-NT. Thus, the objective of this study was to evaluate the effects of fertilization strategies (system and conventional fertilization management, with and without N) (i) on the chemical, and biochemical attributes of soil quality, soybean productivity, and animal productivity in an ICLS-NT; and (ii) how these strategies affect the profitability of ICLS-NT.

By investigating the intricate connections between fertilization approaches and their impacts on soil attributes, agricultural yield, and financial returns, this research seeks to contribute not only to the optimization of agricultural practices but also to the broader discourse on sustainable land management in the front of current complex challenges. Such as land degradation, resource scarcity, and global food demand. As agriculture continues to evolve, this investigation takes a significant step toward shaping practices that support environmental stewardship and economic viability. And, this is the first report that encompasses soil quality attributes, productivity, and profitability in fertilization systems in ICLS in the Global South.

5.2. MATERIAL AND METHODS

5.2.1. Experimental location

The experiment consists of an integrated crop-livestock system in no-tillage (ICLS-NT) started in 2019 at Guarita Farm (16°33'54" S and 54°41'08" W), located in Rondonópolis – MT (Brazil). The region's climate is type Aw - tropical climate, with dry winters and rainy summers, according to the Köppen classification, with an average annual temperature of 26.1°C and an average annual rainfall is 1436 mm. The soil was classified as a *Latossolo Vermelho* with a clay-sandy loam texture by the Brazilian Soil Classification System (SANTOS *et al.*, 2018), corresponding to Ferrasols (IUSS, 2022). The soil's chemical and physical properties at the installation of the experiment in 2019, at the soil layer of 0–20 cm, can be found in Table 1,

and the experimental history is shown in table S2.

In this integrated crop-livestock system, there is annual soybean (*Glycine max*) cultivation (cv. BMX FOCO 75i77 IPRO), between October to February in no-tillage. Followed by the cultivation of *Urochloa brizanta* (cv. BRS Piatã) from March to October, integrated with the grazing cattle (*Bos indicus*, Nelore breed). The experiment is located in an area of 22.8 hectares.

Table 1. Soil chemical and physical analysis in an integrated crop-livestock system in Rondonópolis – MT (Brazil) at the installation of the experiment in 2019, at the soil layer of 0–20 cm

pH CaCl ₂	Al ³⁺ -----	Ca ²⁺ cmol _c dm ⁻³ -----	Mg ²⁺ -----	V - % -	m	P mg dm ⁻³	K	SOM	Clay	Silt	Sand	BD g cm ⁻³
5.5	0.0	2.5	1.3	59.9	0.0	30.8	69.2	1.5	39.0	10.2	50.8	1.37

Exchangeable Al, Ca, and Mg (extracted by KCl 1.0 mol L⁻¹); available P and K (extracted by Mehlich 1) (CAMARGO *et al.*, 2024)

5.2.2. Experimental design

The experimental design is in randomized blocks, in a 2 x 2 factorial scheme, with the first factor being the time of fertilization: Conventional (CF - fertilization with phosphorus and potassium when sowing soybeans), or System (SF - fertilization with phosphorus and potassium in pasture); and the second factor was the application of nitrogen to the pasture, with (N+) or without (N-) application, Totaling four treatments with three replications, forming 12 experimental plots with the 1.9 ha (per plot), and two samples per plot (24 samples). As described in Figure 1.

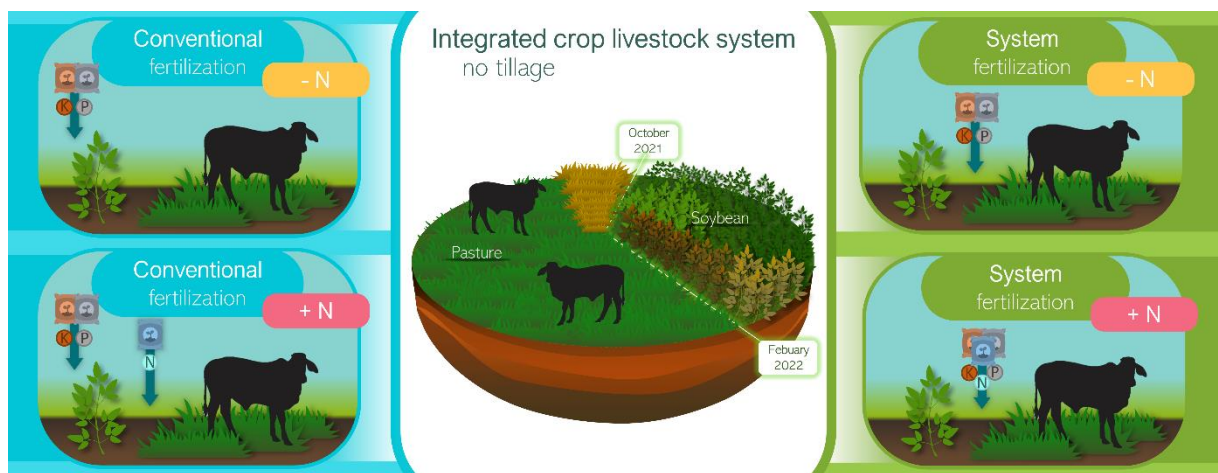


Figure 1. Treatments with different fertilization times with N, P, and K in the different fertilization strategies in the integrated crop-livestock system in no-tillage in Rondonópolis - MT.

5.2.3. Description of the experiment

The fertilizer sources used were triple superphosphate ($\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ with 41% P_2O_5 and 10% Ca) for P, potassium chloride (KCl with 60% K_2O) for K, and ammonium nitrate for N (NH_4NO_3 with 32% N). The calculation of the dose used in the experiment was based on soybean productivity of 4.8 Mg ha^{-1} , using 80 kg ha^{-1} of P_2O_5 , 80 kg ha^{-1} of K_2O , and 100 kg ha^{-1} of N. The System Fertilization was performed at the time when the pasture had four fully expanded leaves. During the pasture phase, seven to nine animals were kept per paddock (1.9 ha) depending on pasture availability. The animals were kept in continuous stocking and grazing without intervals for 89 days, with supplementation starting at 72 days of grazing with 0.5% of live weight (LW) and gradually regulated to 0.8% of LW until the end of the grazing cycle. The animals had an initial average weight of 240 kg, in addition, the pasture was maintained at approximately 32 cm in height. Soybeans received inoculation treatment with *Bradyrhizobium japonicum* in all treatments at the time of planting along with the seed and conventional fertilization was carried out at the time of planting. Cultural treatments, monitoring, and pest and disease control management were identical for all fertilization strategies.

5.2.4. Sampling Soil

Sampling soil was carried out at the end of the soybean crop cycle in February 2022 (harvest 2021/2022). Soil samples were collected at two randomly delimited points within each experimental plot. Within a radius of 1 m from each of these central points, eight soil samples were collected in the 0 – 10 cm layer, which was then homogenized and formed into two composite samples. The samples were stored at 4 °C until the analysis procedure.

5.2.4.1. Soil biochemical attributes

In the soil samples, microbial biomass carbon (MBC) was quantified by titration (VANCE; BROOKES; JENKINSON, 1987); the basal respiration (SBR) by titration (ALEF, 1995); and the enzymes β -1,4-glucosidase, acid phosphatase, arylsulfatase, and the global enzymatic activity measure through the quantification of the hydrolysis of fluorescein diacetate (FDA; Dick, 2015), which were determined on the PHOX UV12 spectrophotometer (Brazil). Using the results of the biochemical attributes, different soil quality indicators were calculated (Table 2).

Table 2. List of soil biological quality indicators and methodologies used.

Indicators	Equation	Reference
Metabolic quotient (qCO_2)	$qCO_2 = (SBR * 1000)/MBC$	(ANDERSON; DOMSCH, 1993; JOERGENSEN; WICHERN, 2018)
Microbial quotient ($qMIC$)	$qMIC = \left(\frac{MBC}{TOC}\right) * 100$	(SPARLING, 1992)
Carbon Stock ¹	$C\ Stock\ (Mg\ ha^{-1})$ $= \left(\frac{(TOC * BD * t)}{10}\right)$ $+ (SMt - SMr) * \left(\frac{TOC}{1000}\right)$	(VELDKAMP, 1994; SISTI et al., 2004)

¹ The carbon stock was calculated and corrected according to Sisti et al. (2004), for this purpose, Bulk Density (BD) was used (CF-N: 1.37; CF+N: 1.41; SF-N: 1.39 and SF+N: 1.34 g cm⁻³), soil thickness (t) of 10 cm; treatment soil mass (SMt) and reference soil mass (SMr; which in this case was from the CF-N treatment), both in Mg ha⁻¹, and (TOC/1000) which represents the carbon content in Mg Mg⁻¹.

5.2.4.2. Soil chemical attributes

The soil samples were air-dried and sieved through a 2 mm mesh. Next, the exchangeable levels of calcium (Ca²⁺) and magnesium (Mg²⁺) were extracted using the extractor KCl 1 mol L⁻¹ (MCLEAN *et al.*, 1958); phosphorus (P) and potassium (K⁺) using the Mehlich 1 extractor (MEHLICH, 1953); and the determination of the levels of these elements was made by optical emission spectrometry with inductively coupled plasma - ICP OES. Total organic carbon (TOC) by oxidation to Na₂Cr₂O₇ 4N + H₂SO₄ 10N (WALKLEY; BLACK, 1934), and nitrogen (N) by the Kjeldahl method (KJELDAHL, 1883).

5.2.5. Productivity Attributes

5.2.5.1. Forage accumulation (FA)

For forage accumulation, three exclusion cages were used per experimental plot, using the triple pairing technique (MORAES, A.; MOOJEN; MARASCHIN, 1990; YASUOKA *et al.*, 2022), with accumulation cycles of 28 days. The locations for allocating cages were chosen at points representative of the average height of the forage canopy. On the same day of cage allocation, three samples per experimental plot were collected from the forage mass outside the cage, at ground level, collecting all forage contained in the 0.25 m² (0.5 × 0.5 m) frame. At the end of each accumulation cycle, a sample was collected inside each cage, totaling three samples per experimental plot, and another three samples outside the cages, using the same procedure previously described. Forage accumulation per grazing cycle was calculated as the difference between the forage mass inside the cages and the forage mass outside the cages. The total accumulation was calculated by summing the accumulation of grazing cycles.

5.2.5.2. Animal Stocking Rate (SR)

The pasture was managed under continuous stocking according to the Rotatinuo Grazing concept (CARVALHO *et al.*, 2016). To adjust the stocking rate, the technique called “put and take” (MOTT; LUCAS, 1952) was used, which corresponds to the entry and exit of animals that regulate the height of the canopy in the experimental plots. To this end, the canopy height was measured weekly through 150 points per experimental plot with the aid of a graduated ruler, to ensure that the pasture was managed at the optimum canopy height (32 cm high). The determination of the animal stocking rate was based on the average live weight of animals per hectare during the evaluation period divided by the animal unit (450 kg; 1 AU).

5.2.5.3. Animal weight gain (AWG)

For grazing, four test animals were used per experimental plot, being male Nelore cattle with an average weight of 245 kg. Animals were weighed monthly after entry into the experiment. Before each weighing, the animals were completely fasted for approximately 16 hours, to ensure emptying of the digestive tract and better prediction of performance.

Average daily weight gain, total weight gain per animal, and weight gain per area were evaluated. Weight gain per animal was obtained from the difference in the animal's live weight at entry and the end of the experimental period. The average daily weight gain was obtained by dividing the weight gain per animal by the number of days spent grazing. To obtain weight gain per area, the weight gain per animal was multiplied by the average number of animals per area.

5.2.5.4. Soybean productivity (GP)

Soybeans were harvested at full physiological maturity (phenological stage R8). Soybean grain productivity was determined from the mechanized harvest of the entire plot, excluding the borders. Subsequently, the soybeans were weighed, with their moisture content was adjusted to 13 % moisture.

5.2.6. Descriptive profitability analysis

A descriptive economic analysis of soybean and pasture production systems was carried out based on data provided by the Instituto Mato-Grossense de Economia Agropecuária (IMEA, 2023). Variable costs, fixed costs, and opportunity costs were organized and calculated for soybean cultivation. Furthermore, the costs of implementing and conducting the pasture phase were calculated based on the data obtained in the experiment. To carry out this analysis, the Full or integral Absorption Costing method was used, which allows the distribution of all costs

incurred in production (Table S3; Crepaldi and Crepaldi, 2018). More details about the methodology used can be found in (SOUZA, 2021).

To determine the price of the 2021/2022 harvest, the value of the arroba do ox (@) was US\$ 59.46 in July 2021, according to data provided by the National Supply Company (CONAB, 2023), and the value of the soybean bag in February 2022, which was US\$ 32.75. The economic indicators analyzed included Total Production Cost, Gross Revenue, and Net Revenue. The unit values found in different sources were converted into dollars using the average price for July 2021 for livestock activity (5.09 R\$ = 1.00 US\$) and February 2022 for agricultural activity (5.35 R\$ = 1.00 US\$) according to Banco Central do Brasil (2023).

5.2.7. Statistical analysis

The variables analyzed were subjected to normality tests (Shapiro Wilk, $P > 0.05$) and homogeneity of variances (Bartlett, $P > 0.05$), and data from variables that did not correspond to normal distribution and homogeneity were transformed by ranks. An ANOVA was developed and in case of significance of the factors and interaction, the means were compared using the Tukey test, when the interaction of the factors was not significant, the Student's T test was used, both tests at $P < 5\%$. A multivariate correlation analysis was also developed along with the ρ Spearman coefficient ($P < 0.05$) and a principal component analysis. All statistical analyses were performed using JMP 13.2 statistical software (SAS Inst. Inc, Cary, NC, USA). Profitability was analyzed from descriptive statistics.

5.3. RESULTS

5.3.1. Soil biochemical and chemical attributes

Fertilization management (CF or SF) and nitrogen fertilization (N- or N+) influenced the contents of total soil organic carbon, carbon stock, microbial biomass carbon, and qCO_2 (Figure 2A, B, D, and F). The System fertilization provides an increase in TOC (29%), carbon stock (32%), and MBC (205%) levels concerning conventional fertilization without N, as well as resulting in a 58% reduction in the stress index of the microbial community, qCO_2 . On the other hand, nitrogen fertilization does not influence these variables within SF management. However, it provides an increase in TOC (28%), carbon stock (35%), and MBC (280%) within conventional management, followed by a 72% reduction in qCO_2 .

Fertilization management influenced basal soil respiration, where the system fertilization led to a 51% increase in SBR in the absence of nitrogen, and 4% in the presence of nitrogen concerning their respective controls (CF; Figure 2C).

The percentage of total carbon composed of microbial biomass carbon measured by the microbial quotient ($qMIC$) was influenced by nitrogen fertilization, with the addition of nitrogen being the factor of increase of 115% of $qMIC$ within conventional fertilization and 75% within System fertilization (Figure 2E).

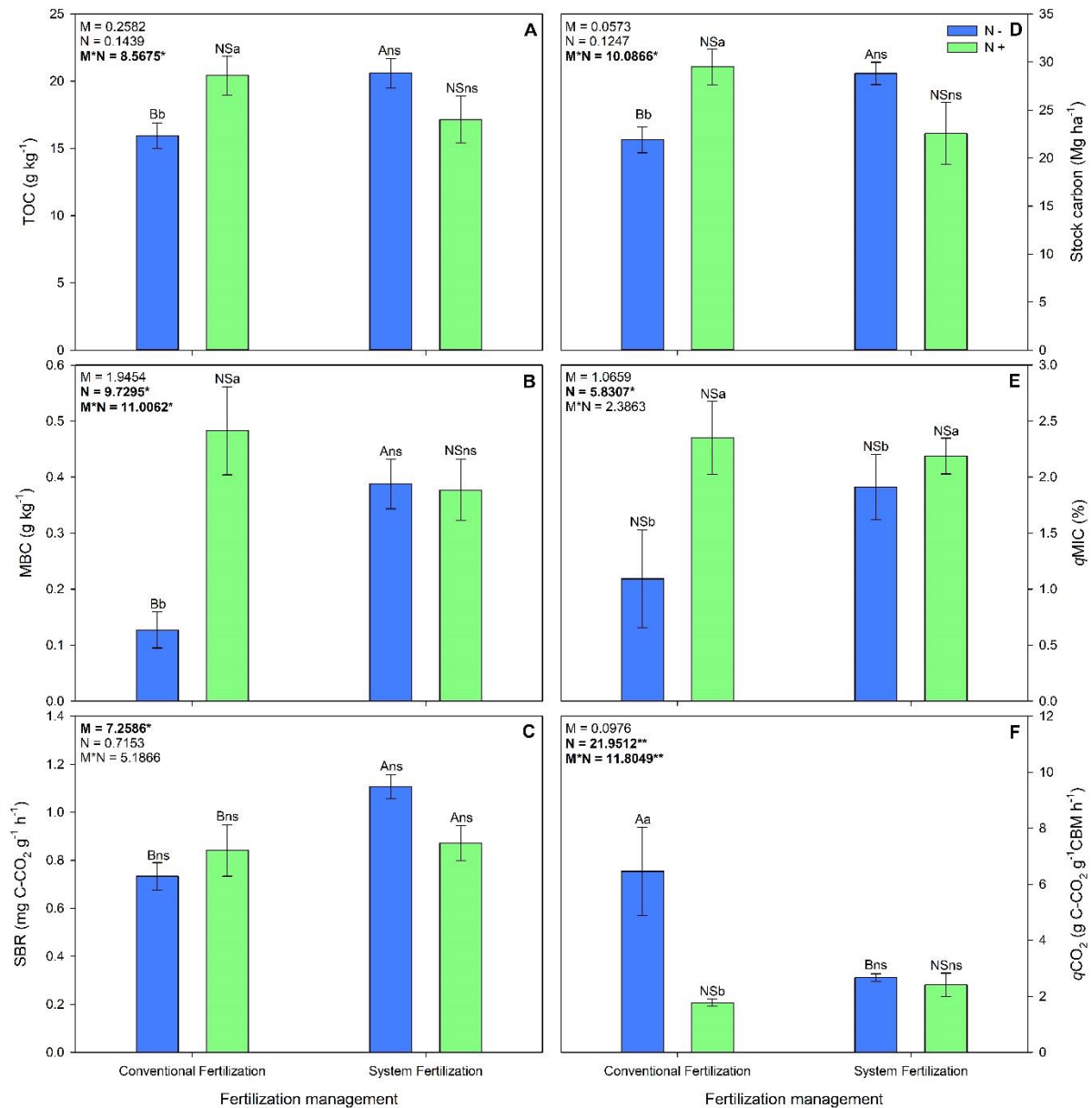


Figure 2. TOC – Total organic carbon (A); MBC – Microbial biomass carbon (B); SBR – Soil basal respiration (C); CS – Carbon stock (D); $qMIC$ – Microbial quotient (E) and qCO_2 – Soil metabolic quotient (F) of the integrated crop-livestock system under different fertilization management. The capital letters demonstrate differences between fertilization management (Conventional and System) within each nitrogen condition, while lowercase letters show significant differences for nitrogen fertilization (N- or N+) within each type of management, using the Student's T-test ($P < 0.05$). Bars represent the mean $\pm$ standard error of three replicates. * and ** denote significance at 5% and 1%, respectively, while NS/ns indicate no significance.

The β -glucosidase activity was not affected by the different fertilization strategies ($P < 0.05$; Figure 3A). However, system fertilization management (SF+N and SF-N) showed the highest activities of arylsulfatase, acid phosphatase, and global soil enzyme activity (FDA) about conventional fertilization within the two nitrogen fertilization conditions; Figure 3B, C, and D).

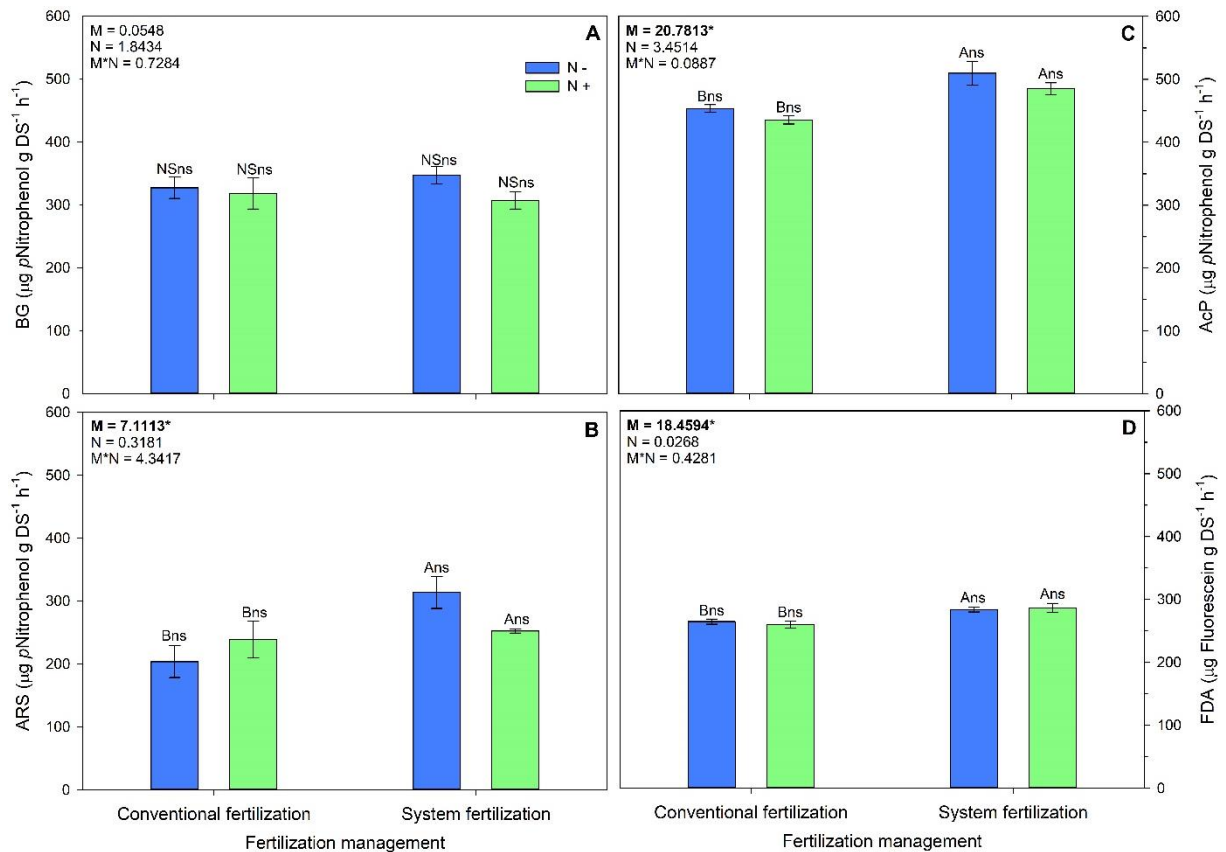


Figure 3. The activity of the enzymes BG - β -glucosidase (A), ARS - Arylsulfatase (B), AcP - Acid phosphatase (C), and FDA - quantification of hydrolysis of fluorescein diacetate (D) in the soil of the integrated crop-livestock system under different fertilizer strategies. Capital letters indicate differences between fertilization management (Conventional and System) within each nitrogen condition, while lowercase letters indicate significant differences for nitrogen fertilization (N- or N+) within each type of management, using the Student's T-test ($P < 0.05$). Bars represent the mean $\pm$ standard error of three replicates. * and ** denote significance at 5% and 1%, respectively, while NS/ns indicate no significance.

In the absence of nitrogen fertilization, the system fertilizer management provided a 41% increase in soil nitrogen content concerning conventional management. However, the treatments that received nitrogen fertilization (CF+N and SF+N) did not show differences in nitrogen content (Figure 4A). The system fertilization management provided increases in the phosphorus content in the soil 55% (SF-N) and 19% (SF+N) higher than the levels observed in their respective controls (conventional management; Figure 4B). The system fertilization management provided a 56% increase in the available potassium content in the soil in the

absence of nitrogen fertilization, on the other hand, the different managements (CF and SF) with nitrogen fertilization did not differ from each other. Nitrogen fertilization reduced 20% of the available K content in the soil within the SF management. However, it was responsible for a 35% increase in K content within conventional management (Figure 4C).

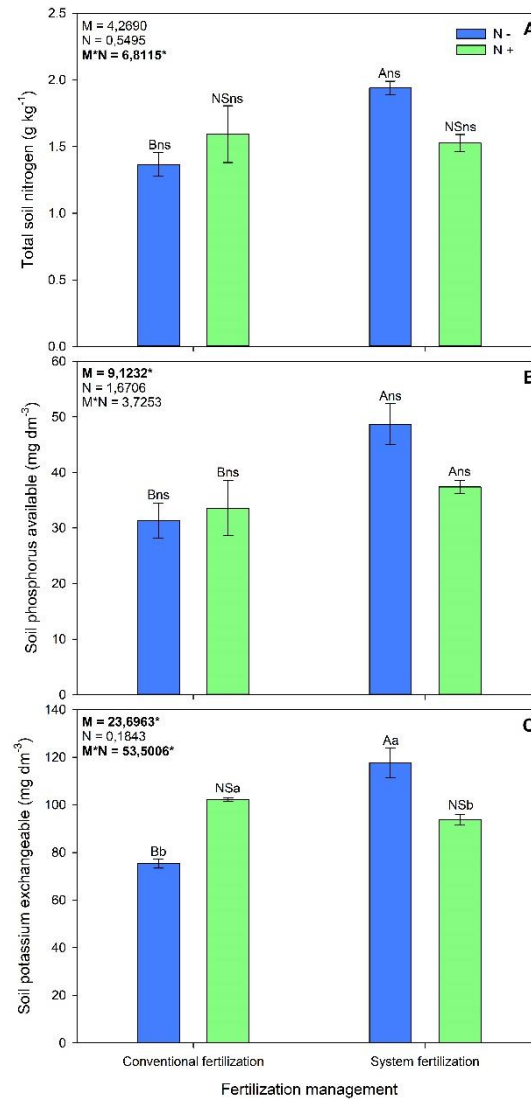


Figure 4. Total nitrogen in the soil (A), available phosphorus (B), and potassium exchangeable in the soil (C) of the integrated crop-livestock system under different fertilization strategies. Capital letters indicate differences between fertilization management (Conventional and System) within each nitrogen condition, while lowercase letters indicate significant differences for nitrogen fertilization (N- or N+) within each type of management, using the Tukey test ($P < 0.05$). Bars represent the mean $\pm$ standard error of three replicates. * and ** denote significance at 5% and 1%, respectively, while NS/ns indicate no significance.

Soybean grain productivity was positively influenced by nitrogen fertilization, resulting in increases of 390 kg (CF+N) and 219 kg (SF+N) more than their respective controls without nitrogen (Figure 6A). The system fertilizer management influenced animal stocking rate (SR) and weight gain (AWG). The SF showed increases of 9 (N-) and 11% (N+) more than their respective controls for SR, while it provided an increase of 31 (N-) and 133 kg (N+) in AWG

concerning conventional controls (Figure 6B and D). The forage accumulation rate was influenced by both system fertilization management and nitrogen fertilization, system fertilization management provided an increase of 201 (N-) and 243 kg (N+) concerning its controls in conventional management. On the other hand, nitrogen fertilization provided an increase of 231 (CF) and 273 kg (SF) more than controls without nitrogen (Figure 5).

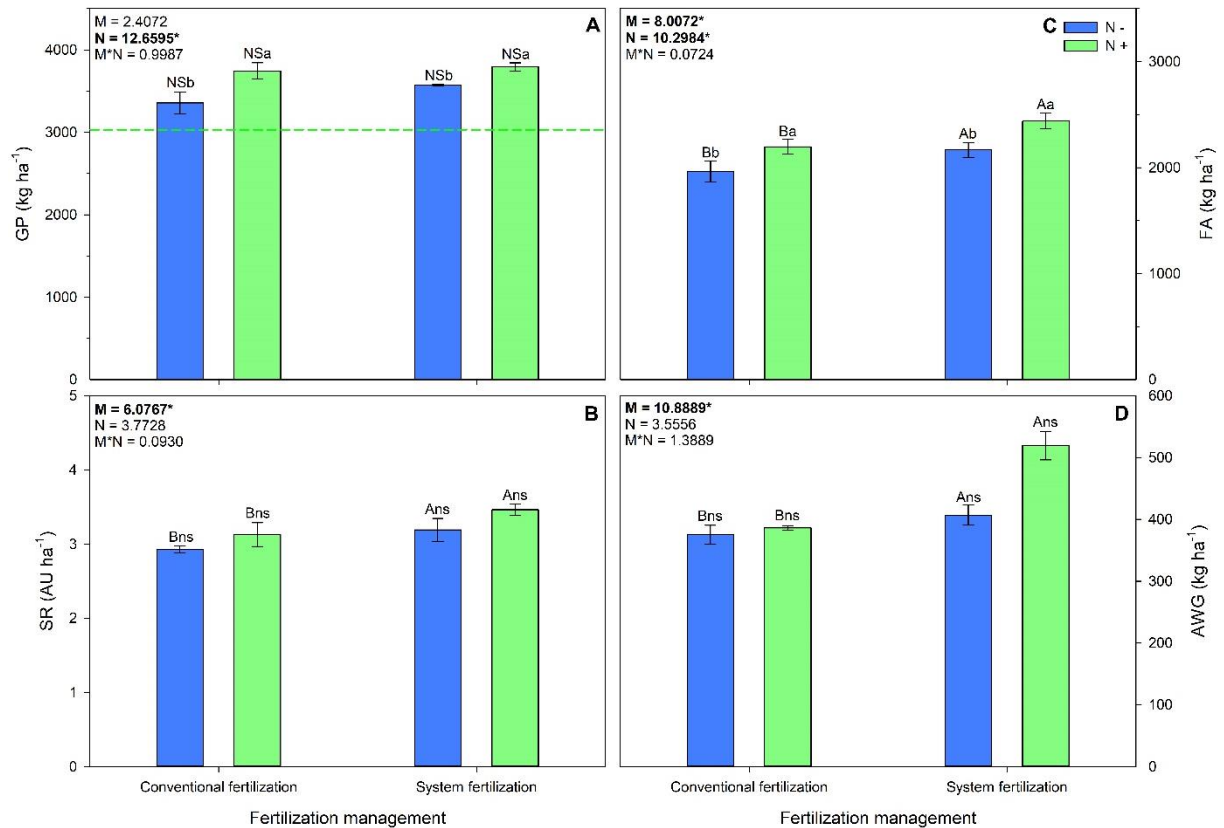


Figure 5. GP - Soybean grain productivity (A), SR – Animal stocking rate (B), FA - Forage accumulation (C), and AWG – Animal weight gain (D) in the integrated crop-livestock system under different fertilization strategies. Capital letters indicate differences between fertilization management (Conventional and System) within each nitrogen condition, while lowercase letters indicate significant differences for nitrogen fertilization (N- or N+) within each type of management, using the Student's T-test ($P < 0.05$). Bars represent the mean $\pm$ standard error of three replicates. * and ** denote significance at 5% and 1%, respectively, while NS/ns indicate no significance. Dashed line in graph A indicates the national average (Brazil) of soybean grain yield in the 2021/2022 harvest (CONAB, 2022).

5.3.2. Correlation and principal components analysis

The correlation analysis showed that qCO_2 was the only variable that correlated inversely proportional to the other variables, having the most negative correlations with forage accumulation (73%), potassium content in the soil (65%), and carbon total organic (55%). However, the ρ Spearman index showed significance in the correlation of this variable only for microbial biomass carbon, $qMIC$, and grain productivity (Figure 6). Soil basal respiration was the most responsive variable, strongly and positively correlating with all chemical variables

(nitrogen, phosphorus, potassium, calcium, magnesium, total soil organic carbon) and soil biochemical variables (activity β -glucosidase, acid phosphatase, and arylsulfatase), with the strongest correlations observed with potassium (80%) and calcium (76%) content. FDA was the only biochemical variable that correlated with production variables, showing correlations with animal stocking rate (57%), forage accumulation (58%), and animal weight gain (66%; Figure 6).



Figure 6. Correlation analysis. Different shades indicate strong positive (green) and negative (red) correlations. * Indicates significant difference using the p Sperman test ($P < 0.05$) and ** ($P < 0.01$). TOC – Total organic carbon; MBC – Microbial biomass carbon; SBR – Soil basal respiration; qCO₂ – Metabolic quotient; qMIC – Microbial quotient; BG – β -glucosidase; AcP – Acid phosphatase; ARS. – Arylsulfatase; FDA – quantification of hydrolysis of fluorescein diacetate; GP – Grain productivity; FA – Forage accumulation; SR – Animal stocking rate; and AWG – Animal weight gain.

Principal component analysis (PCA) explained 59.3% of the data variability, with 40.3% indicated by PC1 and 19% by PC2. This analysis demonstrates that the chemical and biochemical attributes of the soil were grouped with the nitrogen-free system fertilization strategy, the productivity variables were grouped with the nitrogen system fertilization strategy, and qCO₂ was grouped with the conventional treatment, being inversely proportional to the other variables. The most significant variables were SBR, K, SR, Ca, TOC, BG and AWG (Figure 7).

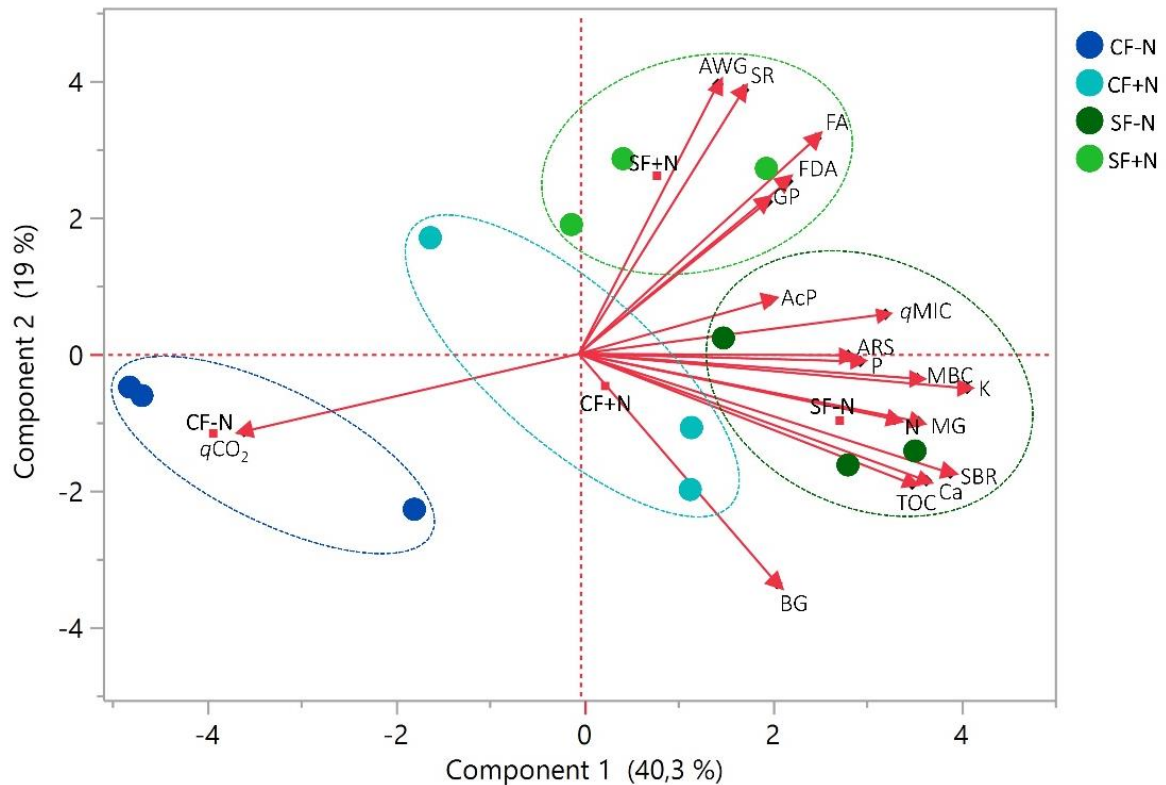


Figure 7. Analysis of principal components with the chemical and biochemical attributes of the soil and the productivity variables of the integrated crop-livestock system under different fertilization strategies. CF-N: Conventional fertilization without nitrogen; CF+N: Conventional fertilization with nitrogen in pasture; SF-N: System fertilization without nitrogen; SF+N: System fertilization with nitrogen. N – Soil nitrogen; P – Soil phosphorus; K – Soil potassium; TOC – Total organic carbon; MBC – Microbial biomass carbon; SBR – Soil basal respiration; qCO_2 – Metabolic quotient; $qMIC$ – Microbial quotient; BG – β -glucosidase; AcP – Acid phosphatase; ARS – Arylsulfatase; FDA – Hydrolysis of fluorescein diacetate; GP – Grain productivity; FA – Forage accumulation; SR – Animal stocking rate; AWG – Animal weight gain.

5.3.3. Profitability analysis

The profitability analysis showed that all fertilizer strategies alternative to conventional (CF-N) entail an increase in the profitability of agricultural production. In all strategies, the most profitable activity was grain production. System fertilization alternatives are the most profitable, with additional earnings (US\$ ha⁻¹) of 383.37 (SF+N) and 227.25 (SF-N) concerning CF-N (Table 3).

Table 3. Descriptive analyses of yields (US\$) of fertilization strategies under soybean productivity (bags with 60 kg) and animal weight (@ with 15 kg) for the 2021/2022 harvest in comparison to conventional fertilization without nitrogen (CF-N).

Harvest 2021/2022	CF-N			CF+N			SF-N			SF+N		
	Grain	Meat	Total	Grain	Meat	Total	Grain	Meat	Total	Grain	Meat	Total
Price	33.72	58.69	92.41	33.72	58.69	92.41	33.72	58.69	92.41	33.72	58.69	92.41
Production	10.76	2.43	13.19	12.02	2.50	14.51	11.46	2.63	14.10	12.17	3.36	15.53
Gross Revenue	1886.29	2729.81	4616.10	2105.87	3250.25	5356.12	2009.20	3290.61	5299.81	2132.48	3510.43	5642.91
Total Cost of Production	736.53	2016.12	2752.64	736.53	2659.55	3396.08	736.53	2472.58	3209.11	736.53	2659.55	3396.08
Net Revenue	1149.77	713.69	1863.46	1369.35	590.69	1960.04	1272.67	818.03	2090.70	1395.95	850.88	2246.83
Profitability Index in relation to CF-N	0.00	0.00	0.00	219.58	-123.00	96.59	122.91	104.34	227.25	246.19	137.19	383.37

5.4. DISCUSSION

System fertilizer management, applied during the pasture phase, proved to be the most assertive strategy. They resulted in greater profitability, with an increase in grain productivity (SF+N), forage accumulation, stocking rate, animal weight gain (SF-N and SF+N), and soil quality, due to the increase in biological activity and greater nutrient availability (Figures 2, 3, 4, 5 and 6). Although the SF-N did not result in gains in grain production, the microbial processes favored by this fertilization strategy significantly improved the biochemical quality of the soil. This approach improves profitability compared to conventional strategies and highlights the complex relationship between nutrient cycling and microbial interactions in integrated crop-livestock systems. However, stands out nitrogen fertilization presented a substantial increase in net revenue. This increase corresponds to a gain of 6.95% (156 US\$) in the system fertilization management and of 4.93% (96 US\$) in conventional fertilization (Table 3). The application of N in an ICLS reduces competition between the plant and microorganisms for N, thus favoring the increase in microbial biomass, the decomposition of organic residues, and other soil microbiota processes (FENG *et al.*, 2022; SACHET *et al.*, 2023). This means that, directly or indirectly, this microbiota helps in plant growth and development and eventually results in gains in the production of meat, grains, and profitability.

The SF-N and CF+N strategies increased the TOC content and carbon stock in 6.9 and 7.6 Mg ha⁻¹ concerning CF-N, respectively (Figure 2A and D). The higher accumulation of TOC in these fertilization strategies can be attributed to the deposition of organic residues and increased soil microbial activity (NADARAJAH; ABDUL RAHMAN, 2023). The addition of inorganic nutrients in the pasture phase favors the increase in carbon associated with soil microbial biomass by resetting nutrients after the period of greatest export, grain production (BERNARDON *et al.*, 2021), reducing energy expenditure in obtaining these nutrients, and favoring the decomposition of organic waste and generation of TOC. On the contrary, in conventional fertilization, there is greater energy expenditure in obtaining nutrients. The absence of these nutrients leads to a reduction in plant growth in the pasture, which increases competition for nutrients and reduces root exudation (ALVES *et al.*, 2019; CARVALHO *et al.*, 2010). This, in turn, affects microbial activity and carbon stock. However, when nitrogen is added to this management, it has an input on its microbial density (MBC), soon on the soil's carbon stock. This can also be observed in the increase in *q*MIC in treatments with nitrogen addition (Figure 2).

The CF-N treatment exhibited a higher *q*CO₂ rate in the same way as presented lower microbial biomass (Figure 3B and F). The *q*CO₂, or specific microbial respiration, is an

indicator of microbial carbon use efficiency (ANDERSON; DOMSCH, 1993). Elevated qCO_2 values allied with reduced microbial biomass carbon, suggest potential carbon loss to the atmosphere and ecological impacts on soil functions (BATISTA *et al.*, 2022). The multivariate analysis indicated a direct relationship between qCO_2 and the CF-N strategy, inversely proportional to the productivity and soil quality attributes (Figure 7). The same behavior was also described in Pires *et al.* (2022). The system's fertilization management approaches (SF-N and SF+N), in addition to the lowest qCO_2 values, correlated with all production variables (SF+N) and chemical and biochemical attributes of soil quality (SF -N). This suggests that these fertilization strategies are more assertive in guaranteeing both soil quality and system productivity. Therefore, they are recommended for implementation in ICLS-NT.

SF+N and SF-N increased microbial activity (SBR), this behavior indicates that these fertilization strategies stimulate greater respiration of the soil heterotrophic community. Furthermore, a positive correlation was observed between SBR and all chemical attributes and enzymatic activity of the soil. Although SBR is an indicator of carbon loss, it is also an indicator of the metabolic activity of this community (BATISTA *et al.*, 2022; CURIEL YUSTE *et al.*, 2007). This results in greater mineralization of nutrients and reflects an increase in the N, P, and K contents of the soil. Likewise, an increase in enzyme activity (AcP, ARS, and FDA) was observed with the system's fertilization management, although no effect of nitrogen fertilization was observed (Figure 3B, C, and D). The activity values of these enzymes are considered adequate for Cerrado (tropical savanna) soils according to Lopes *et al.* (2013).

Enzymatic activities are sensitive indicators of management changes (BATISTA *et al.*, 2022; BONETTI *et al.*, 2018; CAMARGO *et al.*, 2022), and thus, can express the potential of different fertilization strategies. Within an ICLS-NT there is a constant entry of organic residues, which are subject to mineralization by the activity of these enzymes, releasing nutrients that can be absorbed by subsequent cultures (BONETTI *et al.*, 2023; KUNRATH *et al.*, 2020). In strategies where P and K are supplied after the period of greatest nutrient export (FS), there is an increase in forage accumulation, stocking rate, and animal weight gain (Figure 6), which reflects in a higher volume of residues deposited in the soil, which may be the main factor that drives enzymatic activity in these strategies. However, β -glucosidase activity showed no differences between treatments (Figure 4A). β -glucosidase is a hydrolytic enzyme responsible for the degradation of cellulose and transforming root exudates (JIAN *et al.*, 2016), and is highly influenced by increases in organic matter and plant diversity within the system (ZHANG *et al.*, 2021). The absence of changes in this enzyme activity can be attributed to the soil sampling period, which occurred during the soybean harvest when organic residues from

pasture biomass and roots were probably in advanced stages of decomposition and mineralization.

The most N, P, S, and K tend to be present in organically linked forms (SABIR *et al.*, 2021). Thus, the biological role becomes crucial for the conservation, and cycling of nutrients, and the functioning of the agroecosystem. Multivariate analysis demonstrated a positive correlation between the increase in soil P content and AcP activity, indicating that a part of the soil phosphorus content is provided by enzymatic activity. Considering the soybean growth cycle (~110 days), the organic component and microbial activity of the soil in the SF-N and SF+N strategies would have an estimated potential to mineralize around 39 and 34 kg P ha⁻¹, and 80 and 9.8 kg S ha⁻¹ in relation to their respective controls (Figure S1). This amount of P converted by enzymes under optimal activity conditions would be sufficient to additional the export of nutrients by the different components (beef cattle and soybeans) and potentially reduce the dosage of chemical fertilizers in subsequent crops.

The grain and meat production phases have different nutrient export coefficients in integrated systems, with the grain phase being responsible for an average nutrient export of 95% compared to 5% in the animal production phase (ALVES *et al.*, 2019). During the grain production phase, a substantial volume of nutrients is required, which in turn are exported from the environment via grains and are not recycled or retained (BERNARDON *et al.*, 2021). Considering P and K, for example, 2.15 and 3.63 g of P and K are exported per kilogram of meat produced (WILLIAMS, 2007), totaling 0.91 kg ha⁻¹ P and 1.53 kg ha⁻¹ K associated with the average meat production of the treatments. Furthermore, 82.9% of the phosphorus consumed by animals is returned to the environment through waste (ROTHWELL *et al.*, 2020). On the other hand, comparing the P content exported by soybeans (5.76 g kg⁻¹; XIE *et al.*, 2017) and K (20 g K kg⁻¹; VILLAR, 2007), we obtain an average extraction of 20.84 kg ha⁻¹ P and 72.36 kg ha⁻¹ K, respectively. This implies that fertilization during the pasture phase will lead to higher conservation of nutrients in the agroecosystem, due to the low export of nutrients by animals and the elevated deposition of straw and animal excrement in the environment. This also optimizes soil microbial processes, transforming and providing nutrients. Thus, the use of chemical inputs becomes more efficient. As for the increase in nitrogen in SF-N, it may be related to the increased activity and diversity of diazotrophic bacteria in both vegetable components (Pasture and Soybean; LIAO *et al.*, 2021), which, in addition to biologically fixing N in the system, it can contribute to several other mechanisms that promote plant growth. This not only leads to an increase in N input but also an increase in organic matter content.

The SF-N and SF+N strategies optimized forage production, and consequently resulted

in a higher stocking rate and animal weight gain (Figure 6). This increase in animal production resulted in gains of 75 (SF-N) and 187 kg (SF+N) of carcass more than those observed by the average of all treatments studied by Dias *et al.* (2022), when investigating the effect of different forage species in ICLS on the growth of Nelore cattle in the Brazilian Cerrado. We also observed that system fertilization management increased the chemical and biochemical quality of the soil (Figure 7). However, only in treatments with nitrogen fertilizer (CF+N and SF+N), there was an increase in soybean grain productivity (Figure 6). These strategies showed an increase of 718 and 765 kg of grains more than the Brazilian average of soybean productivity in the same year (3,029 kg ha⁻¹; CONAB - Brazilian National Food Supply Agency, 2022).

Although the CF+N strategy obtained results similar to those observed in system fertilization strategies for some variables (chemical and productivity), the final net revenue is lower than the other system fertilization strategies (Table 3). The initial costs with nitrogen fertilizer, operational expenses, reduction in soil fertility, and biological activity demonstrate that this strategy reduces soil quality and the long-term profitability of the system. The benefits of using system fertilization management are evident in the optimization potential of ICLS-NT. Its adoption can lead to increased financial efficiency, and reduced impact on the agroecosystem in tropical environments. The additional revenue of 383 (SF+N) and 227 US\$ ha⁻¹ (SF-N) compared to CF-N (Table 3) is a clear example of this potential. Thus, it is possible to demonstrate that simple management technologies within conservation production systems, such as ICLS-NT, have the potential to optimize gains and productivity rates per unit area, corroborating the Sustainable Development Goals (SDGs) valued by the UN (<https://sdgs.un.org/goals>), mainly regarding responsible production, zero hunger and combating climate change.

5.5. CONCLUSIONS

System fertilization management (SF-N and SF+N) increases soil microbial and enzymatic activity (SBR, AcP, ARS, and FDA), available P content, forage accumulation, stocking rate, and animal weight gain, providing greater profitability to the ICLS-NT. As it is an experiment with only three years of execution, the results demonstrate a trend toward optimizing microbial processes that act under the cycling of nutrients in the soil. This results in an increase in productivity and soil quality in these strategies.

Conventional fertilization without nitrogen reduces the chemical and biochemical quality of the soil, resulting in an increase in $q\text{CO}_2$ and a decrease in the system's productivity. Conventional fertilization with nitrogen increased TOC, MBC, and $q\text{MIC}$, which provided

greater soybean productivity. However, net income is reduced concerning system fertilization management.

In both fertilizer management (CF and SF) the addition of N in the pasture phase provides an increase in grain productivity. However, the highest profitability of ICLS-NT was observed in SF+N, demonstrating that simple management practices can boost agricultural sustainability.

REFERENCES

- Alef, K. (1995) 'Field methods: Estimation of soil respiration', in *Methods in Applied Soil Microbiology and Biochemistry*. Academic Burmeier, pp. 463–490. doi: 10.1016/b978-012513840-6/50025-2.
- Alves, L. A. et al. (2019) 'Soil acidification and P, K, Ca and Mg budget as affected by sheep grazing and crop rotation in a long-term integrated crop-livestock system in southern Brazil', *Geoderma*, 351(November 2018), pp. 197–208. doi: 10.1016/j.geoderma.2019.04.036.
- Alves, L. A. et al. (2020) 'The effect of crop rotation and sheep grazing management on plant production and soil C and N stocks in a long-term integrated crop-livestock system in Southern Brazil', *Soil and Tillage Research*, 203(April), p. 104678. doi: 10.1016/j.still.2020.104678.
- Ambus, J. V. et al. (2023) 'Integrated crop-livestock systems in lowlands with rice cultivation improve root environment and maintain soil structure and functioning', *Soil and Tillage Research*, 227(November 2022). doi: 10.1016/j.still.2022.105592.
- Anderson, T. H. and Domsch, K. H. (1993) 'The metabolic quotient for CO₂ (q_{CO_2}) as a specific activity parameter to assess the effects of environmental conditions, such as pH, on the microbial biomass of forest soils', *Soil Biology and Biochemistry*, 25(3), pp. 393–395. doi: 10.1016/0038-0717(93)90140-7.
- Banco Central do Brasil (2023) Cotações e Boletins. Available at: <https://www.bcb.gov.br/estabilidadefinanceira/historicocotacoes>.
- Barbosa, J. Z. et al. (2023) 'Soil enzymatic activity in Brazilian biomes under native vegetation and contrasting cropping and management', *Applied Soil Ecology*, 190(July 2022). doi: 10.1016/j.apsoil.2023.105014.
- Batista, É. R. et al. (2022) 'Organic substrate availability and enzyme activity affect microbial-controlled carbon dynamics in areas disturbed by a mining dam failure', *Applied Soil Ecology*, 169(March 2021), pp. 1–7. doi: 10.1016/j.apsoil.2021.104169.
- Bernardon, A. et al. (2021) Carryover of N-fertilization from corn to pasture in an integrated crop-livestock system, *Archives of Agronomy and Soil Science*. Taylor & Francis. doi: 10.1080/03650340.2020.1749268.
- Bonetti, J. D. A. et al. (2018) 'Soil physical and biological properties in an integrated crop-livestock system in the Brazilian Cerrado', *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, 53(1), pp. 1239–1247. doi: 10.1590/S0100-204X2018001100006.
- Bonetti, J. de A. et al. (2023) 'Agricultural practices to improve near-surface soil health and crop yield in subtropical soils', *Soil and Tillage Research*, 234(July), pp. 1–10. doi: 10.1016/j.still.2023.105835.
- Calabi-Floody, M. et al. (2018) 'Smart Fertilizers as a Strategy for Sustainable Agriculture', *Advances in Agronomy*, 147(45), pp. 119–157. doi: 10.1016/bs.agron.2017.10.003.

Camargo, T. A. de et al. (2022) 'Plant diversity and cattle grazing affecting soil and crop yield in tropical sandy soils', Archives of Agronomy and Soil Science.

Camargo, T. A. de, Alves, L. A., Mendes, I. C., Gasques, L. R., de Oliveira, L. G. S., Pires, G. C., ... & de Souza, E. D. (2024). Enhancing soil quality and grain yields through fertilization strategies in integrated crop-livestock system under no-till in Brazilian Cerrado. European Journal of Soil Biology, 121, 103613.

Carvalho, P. C. F. et al. (2010) 'Managing grazing animals to achieve nutrient cycling and soil improvement in no-till integrated systems', Nutrient cycling in agroecosystems, pp. 259–273. doi: 10.1007/s10705-010-9360-x.

Carvalho, P. C. F. et al. (2018) 'Integrating the pastoral component in agricultural systems', Revista Brasileira de Zootecnia.

Carvalho, P. C. F. et al. (2016) 'Como a estrutura do pasto influencia o animal em pastejo? Exemplificando as interações planta-animal sob as bases e fundamentos do Pastoreio "Rotatínuo"', VIII Simpósio sobre manejo estratégico da pastagem, (October), p. 21.

CONAB Brazilian National Food Supply Agency [Companhia Nacional do Abastecimento] (2022) Acompanhamento da Safra Brasileira de grãos, Boletim da Safra 2021/2022. Brasília - DF. Available at: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/>.

CONAB, C. N. de A. (2023) Preços agro. Available at: <https://sisdep.conab.gov.br/precosiagroweb> (Accessed: 6 May 2023).

Crepaldi, S. A. and Crepaldi, G. S. (2018) Contabilidade de custos. 6th edn. São Paulo (Brazil): Atlas.

Curiel Yuste, J. et al. (2007) 'Microbial soil respiration and its dependency on carbon inputs, soil temperature and moisture', Global Change Biology, (2007), pp. 2018–2035. doi: 10.1111/j.1365-2486.2007.01415.x.

Dale, V. H. and Polasky, S. (2007) 'Measures of the effects of agricultural practices on ecosystem services', Ecological Economics, 64(2), pp. 286–296. doi: 10.1016/j.ecolecon.2007.05.009.

Delandmeter, M. et al. (2023) 'Integrated crop and livestock systems increase both climate change adaptation and mitigation capacities', Science of The Total Environment, p. 169061. doi: 10.1016/j.scitotenv.2023.169061.

Dias, M. B. de C. et al. (2022) 'Cattle performance with *Brachiaria* and *Panicum maximum* forages in an integrated crop-livestock system', African Journal of Range and Forage Science, 39(2), pp. 230–243. doi: 10.2989/10220119.2021.1901311.

Dick, R. P. (2015) Methods of soil enzymology, Methods of Soil Enzymology. doi: 10.1002/9780891188582.

Farias, G. D. et al. (2020) 'Integrated crop-livestock system with system fertilization approach improves food production and resource-use efficiency in agricultural lands', Agronomy for

Sustainable Development, 40(6). doi: 10.1007/s13593-020-00643-2.

Feng, X. et al. (2022) 'Nitrogen input enhances microbial carbon use efficiency by altering plant–microbe–mineral interactions', *Global Change Biology*, 28(16), pp. 4845–4860. doi: 10.1111/gcb.16229.

Franco, A. de J. et al. (2020) 'Plant diversity in integrated crop-livestock systems increases the soil enzymatic activity in the short term', *Pesquisa Agropecuaria Tropical*, 50, pp. 1–11. doi: 10.1590/1983-40632020V5064026.

FREITAS, C. M. DE (2021) *Produção de forragem e desempenho animal em sistemas integrados de produção agropecuária com adubação de sistemas no cerrado*. Universidade Federal do Paraná.

Gentry, T. T., Fuhrmann, J. J. and Zuberer, D. A. (2021) *Principles and Applications of Soil Microbiology*. 3rd edn. Amsterdam: Elsevier.

IMEA (2023) Relatórios de mercado. Available at: <http://www.imea.com.br/imea-site/relatorios-mercado-detalle?c=4&s=3> (Accessed: 15 April 2023).

IUSS (2022) *World reference base for soil resources: International soil classification system for naming soils and creating legends for soil maps*. 4th edn. Vienna, Austria.

Jian, S. et al. (2016) 'Soil extracellular enzyme activities, soil carbon and nitrogen storage under nitrogen fertilization: A meta-analysis', *Soil Biology and Biochemistry*, 101, pp. 32–43. doi: 10.1016/j.soilbio.2016.07.003.

Joergensen, R. G. and Wichern, F. (2018) 'Alive and kicking: Why dormant soil microorganisms matter', *Soil Biology and Biochemistry*, 116(October 2017), pp. 419–430. doi: 10.1016/j.soilbio.2017.10.022.

Kjeldahl, J. (1883) 'New method for the determination of nitrogen', *Chem. News*, 48(1240), pp. 101–2.

Kunrath, T. R. et al. (2020) 'Sward height determines pasture production and animal performance in a long-term soybean-beef cattle integrated system', *Agricultural Systems*, 177(September 2019), p. 102716. doi: 10.1016/j.agsy.2019.102716.

Lemaire, G. et al. (2014) 'Integrated crop-livestock systems: Strategies to achieve synergy between agricultural production and environmental quality', *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 190, pp. 4–8. doi: 10.1016/j.agee.2013.08.009.

Liao, L. et al. (2021) 'Nitrogen fertilization increases fungal diversity and abundance of saprotrophs while reducing nitrogen fixation potential in a semiarid grassland', *Plant and Soil*, pp. 515–532. doi: 10.1007/s11104-021-05012-w.

Lopes, A. A. C. et al. (2013) 'Interpretation of Microbial Soil Indicators as a Function of Crop Yield and Organic Carbon', *Soil Science Society of America Journal*, pp. 461–472. doi: 10.2136/sssaj2012.0191.

McLean, E. O. et al. (1958) 'Aluminum in Soils: I. Extraction Methods and Magnitudes in

Clays and Ohio Soils', Soil Science Society of America Journal, 22(5), p. 382. doi: 10.2136/sssaj1958.03615995002200050005x.

Mehlich, A. (1953) 'Determination of P, Ca, Mg, K, Na and NH_4 ', North Carolina Soil Testing Division, p. 195.

Moojen, F. G. et al. (2022) 'A serious game to design integrated crop-livestock system and facilitate change in mindset toward system thinking', Agronomy for Sustainable Development, 42(3). doi: 10.1007/s13593-022-00777-5.

Moraes, A., Moojen, E. L. and Maraschin, G. E. (1990) 'Comparação de métodos de taxas de crescimento em uma pastagem submetida a diferentes pressões de pastejo', Reunião anual da Sociedade de Zootecnia. Sociedade Brasileira de Zootecnia, p. 332.

Mott, G. and Lucas, H. L. (1952) 'The design conduct and interpretation of grazing trials on cultivated and improved pastures', in International Grassland Congress. Pennsylvania: State College, Pennsylvania, pp. 1380–1395.

Nadarajah, K. and Abdul Rahman, N. S. N. (2023) 'The Microbial Connection to Sustainable Agriculture', Plants, 12(12). doi: 10.3390/plants12122307.

Nunes, P. A. de A. et al. (2019) 'Grazing intensity determines pasture spatial heterogeneity and productivity in an integrated crop-livestock system', Grassland Science, 65(1), pp. 49–59. doi: 10.1111/grs.12209.

Oliveira Silva, A. et al. (2018) 'Soil microbiological attributes indicate recovery of an iron mining area and of the biological quality of adjacent phytophysionomies', Ecological Indicators, 93(April), pp. 142–151. doi: 10.1016/j.ecolind.2018.04.073.

Pires, G. C. et al. (2022) 'System Fertilization Increases Soybean Yield Through Soil Quality Improvements in Integrated Crop-Livestock System in Tropical Soils', Journal of Soil Science and Plant Nutrition, 22(4), pp. 4487–4495. doi: 10.1007/s42729-022-01050-0.

Raza, T. et al. (2023) 'Unrevealing the potential of microbes in decomposition of organic matter and release of carbon in the ecosystem', Journal of Environmental Management, 344(July), p. 118529. doi: 10.1016/j.jenvman.2023.118529.

Rothwell, S. A. et al. (2020) 'Phosphorus stocks and flows in an intensive livestock dominated food system', Resources, Conservation and Recycling, 163(May), p. 105065. doi: 10.1016/j.resconrec.2020.105065.

Sachet, D. O., Al-tememe, M. S. O. and Hussain, M. A. (2023) 'Comparative Study of the Effect of Biological and Chemical Fertilization on some Growth Characteristics of Wheat Crop *Triticum aestivum* Comparative Study of the Effect of Biological and Chemical Fertilization on some Growth Characteristics of Wheat Crop T', IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 1158(2). doi: 10.1088/1755-1315/1158/2/022022.

Santos, H. G. et al. (2018) Sistema brasileiro de classificação de solos. 5th edn, Embrapa Solos. 5th edn. Brasília - DF.

Simões, V. J. L. P. et al. (2023) 'Structural soil quality and system fertilization efficiency in

integrated crop-livestock system', *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 349(December 2022). doi: 10.1016/j.agee.2023.108453.

Souza, Sandra Maria Monteiro de Araujo (2021) *Contabilidade de custos e a análise econômico-financeira da fase de recria em sistemas integrados de produção agropecuária*. Universidade Federal do Mato Grosso.

Sparling, G. P. (1992) 'Ratio of microbial biomass carbon to soil organic carbon as a sensitive indicator of changes in soil organic matter', *Australian Journal of Soil Research*, 30(2), pp. 195–207. doi: 10.1071/SR9920195.

Teixeira, P. C. et al. (2017) *Manual De Métodos de Análise de Solo*. 3rd edn. Edited by P. C. Teixeira et al. Brasília - DF. Available at: http://www.cse.edu.uy/sites/www.cse.edu.uy/files/documentos/Liccom_Camejo_2011-07-28.pdf.

Valani, G. P. et al. (2021) 'Soil quality assessments in integrated crop–livestock–forest systems: A review', *Soil Use and Management*, 37(1), pp. 22–36. doi: 10.1111/sum.12667.

Vance, E. D., Brookes, P. C. and Jenkinson, D. S. (1987) 'An extraction method for measuring soil microbial biomass C', *Soil Biology and Biochemistry*, 19(6), pp. 703–707. Available at: papers://c153aa6a-674a-4d9c-be67-ab5f6be3d6cb/Paper/p4.

Veldkamp, E. (1994) 'Organic Carbon Turnover in Three Tropical Soils under Pasture after Deforestation', *Soil Science Society of America Journal*, 58(1), pp. 175–180. doi: 10.2136/sssaj1994.03615995005800010025x.

Villar, M. L. P. (2007) 'Manual de interpretação de análises de plantas e solos e recomendação de adubação', EMPAER-MT - EMPRESA MATO-GROSSENSE DE PESQUISA, ASSISTÊNCIA E EXTENSÃO RURAL. Cuiabá - MT, Brasil, p. 182. Available at: <http://journal.um-surabaya.ac.id/index.php/JKM/article/view/2203>.

Walkley, A. and Black, I. A. (1934) 'An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter, and proposed modification of the chromic acid titration method', *Soil Science*, 37, pp. 29–38.

Williams, P. (2007) 'Nutritional composition of red meat', *Nutrition and Dietetics*, 64(SUPPL. 4), pp. 5–7. doi: 10.1111/j.1747-0080.2007.00197.x.

Xie, J., Schoenau, J. and Warkentin, T. D. (2017) 'Yield and uptake of nitrogen and phosphorus in soybean, pea, and lentil and effects on soil nutrient supply and crop yield in the succeeding year in Saskatchewan, Canada', *Canadian Journal of Plant Science*, 98(1), pp. 5–16. doi: 10.1139/cjps-2016-0342.

Yasuoka, J. I. et al. (2022) 'Microclimate of grass canopies and biomass accumulation are influenced by the use of caged exclosures in grazing research', *International Journal of Biometeorology*, 66(1), pp. 45–54. doi: 10.1007/s00484-021-02187-w.

Zhang, B. et al. (2021) 'Plant mixture effects on carbon-degrading enzymes promote soil organic carbon accumulation', *Soil Biology and Biochemistry*, 163(October), p. 108457.

6. ARTIGO 2: IMPACTO DA ALTURA DE PASTEJO EM SISTEMA INTEGRADO DE PRODUÇÃO AGROPECUÁRIA NA SAÚDE DO SOLO, RENDIMENTO DA CULTURA E NA COMUNIDADE MICROBIANA DA RIZOSFERA

Davi Santos Tavares¹, Aline de Jesus Franco¹, Éder Rodrigues Batista¹, Layane Aparecida Mendes dos Santos¹, Maria Clara Soares¹, Jessyca Adriana Gomes Florêncio da Silva¹, Leonardo Dallabrida Mori², Sylvio Medina², Aline Oliveira Silva¹, Victor Satler Pylro³, Marcio Renato Nunes⁴, Paulo Cesar Faccio de Carvalho², Marco Aurélio Carbone Carneiro¹

¹ Departamento de Ciência do Solo, Universidade Federal de Lavras, 37200-900 Lavras, Minas Gerais, Brasil

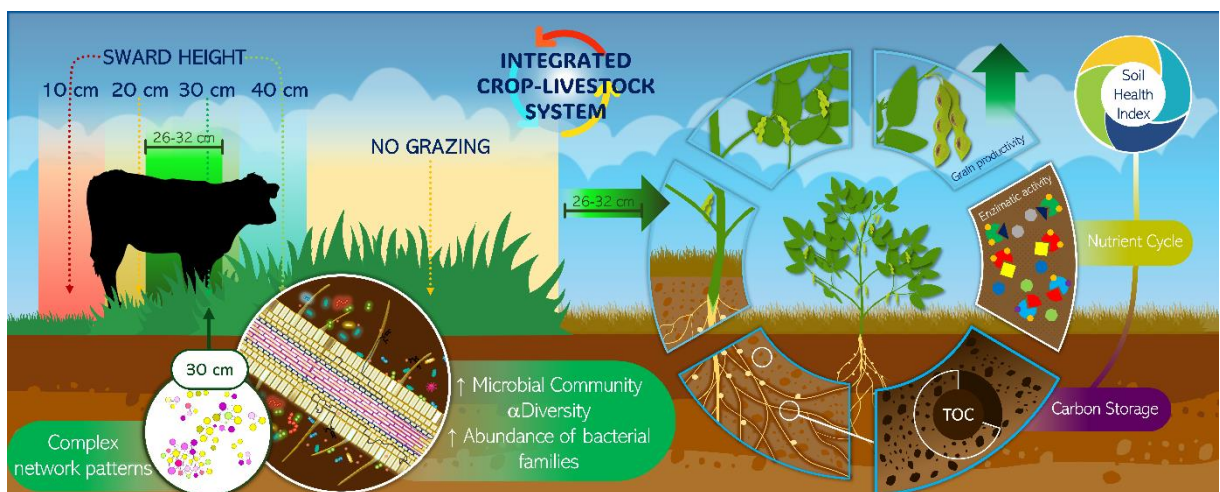
² Departamento de Plantas Forrageiras e Agrometeorologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil

³ Departamento de Biologia, Universidade Federal de Lavras, 37200-900 Lavras, Minas Gerais, Brasil

⁴ Ciências do Solo, da Água e dos Ecossistemas, Departamento e Instituto Global de Sistemas Alimentares, Universidade da Flórida, Gainesville, FL 32611, Estados Unidos

DESTAQUES

- Intensidades moderadas de pastejo aumentam a saúde do solo e produtividade da soja;
- O pastejo influencia a comunidade bacteriana e fúngica na rizosfera da soja;
- O índice de qualidade do solo indica aumento na ciclagem de nutrientes e sequestro de carbono;
- Alta intensidade de pastejo reduz a produtividade de grãos da soja.



RESUMO

A intensidade do pastejo emerge como um fator crítico para o equilíbrio de Sistemas Integrados de produção agropecuária (SIPA). A escolha de estratégias de pastejo que otimizam tanto a produção de grãos quanto a saúde do solo tornam-se mais atrativas. Assim, o objetivo deste estudo foi identificar se o componente animal e as variações na intensidade de pastejo influenciam a saúde do solo, a produtividade agrícola e a resposta da comunidade microbiana na rizosfera da soja em SIPA. Avaliou-se um SIPA com 21 anos de implantação, sendo cultivado soja no verão seguido de azevém na entressafra integrado ao pastejo por bovinos. Os tratamentos consistiram em diferentes intensidades de pastejo (10 cm, 20 cm, 30 cm e 40 cm de altura do pasto) e controle (sem pastejo animal). O impacto dos tratamentos foi avaliado através de (i) atributos químicos, físicos e bioquímicos do solo, a partir dos quais foi desenvolvido índices de saúde do solo, (ii) produtividade de grãos, massa total e residual de forragem, (iii) análise metataxonomica no solo rizosférico da soja para identificar as comunidades bacterianas e fúngicas. Em intensidades moderadas de pastejo variando entre 20 e 40 cm o índice de saúde do solo (ISS) foi em média 19% superior ao tratamento sem pastejo, sendo o intervalo de alturas entre 26 e 32 cm a faixa mais assertiva tanto para o ISS como para produtividade de grãos, determinada pelas curvas de regressão e análise de bootstrap. O componente animal promove padrões mais complexos nas redes de coocorrência das comunidades fúngicas e bacterianas na rizosfera da soja, sendo a altura de pastejo de 30 cm responsável por maior diversidade microbiana. Esses achados demonstram que o pastejo moderado promove a saúde do solo enquanto intensifica a produtividade da soja, tornando-se uma prática agrícola indispensável para o crescimento sustentável da agricultura moderna.

PALAVRAS-CHAVE: Diversidade microbiana. Índice de saúde do solo. Bioquímica do Solo. Altura do pasto.

6.1. INTRODUÇÃO

A adoção de Sistemas Integrados de produção agropecuária (SIPA) vem ganhando destaque devido ao seu potencial de combinar maior produtividade por unidade de área e a quantidade de produtos (ex.: carne, grãos, fibras, leite, lã, entre outros) com, sustentabilidade dos serviços ecossistêmicos por meio do acoplamento cíclico de produções distintas (COSTA *et al.*, 2018; JING *et al.*, 2022). Entretanto, o sucesso deste sistema depende do equilíbrio entre a gestão pecuária e a produção agrícola. Assim, investigar práticas que possam aprimorar e consolidar essa sinergia entre ambos os nichos produtivos é extremamente importante, uma vez que tem implicações diretas

na segurança alimentar e conservação ambiental.

Nos SIPAs, a intensidade do pastejo influencia tanto a saúde do solo, quanto o rendimento das culturas (BYRNES *et al.*, 2018; SIMÕES *et al.*, 2023; YANG *et al.*, 2020). O componente animal promove acúmulo de serrapilheira e estimula a microbiota do solo (HASSAN *et al.*, 2021). Além de regular o crescimento vegetal e a disponibilidade de palhada (KUNRATH *et al.*, 2020), a microbiota animal atua como catalizadora das transformações bioquímicas da pastagem e por consequência, como inoculante e condicionador do solo, a partir da deposição de excretas com fontes variadas de carbono, nitrogênio e microrganismos (ATTWOOD *et al.*, 2019; BANERJEE; VAN DER HEIJDEN, 2023). Essa comunidade microbiana do solo pode ser estimulada também pelos exsudatos radiculares e assim acarretar mudanças significativas no microbioma radicular das culturas subsequentes (BANERJEE; VAN DER HEIJDEN, 2023; WEN *et al.*, 2022). Contudo, em altas intensidades de pastejo, o componente animal pode promover a degradação do solo, e impactar negativamente a produção agrícola (DENG *et al.*, 2023). O limiar adequado da intensidade de pastejo deve ser pensado e estabelecido cautelosamente para manutenção de ambas as produções (agrícola e pecuária) e da qualidade do solo, a fim de atingir um modelo de produção responsável e sustentável.

Alguns estudos têm sugerido que a altura ideal de pastejo no Azevém gira em torno de 20-30 cm, sendo uma altura benéfica tanto para a produção de forragem quanto para o desempenho animal em SIPA (KUNRATH *et al.*, 2014, 2020; SOUZA FILHO *et al.*, 2019; WESP *et al.*, 2016). Porém, o efeito que diferentes intensidades de pastejo podem causar na saúde do solo e na sua comunidade microbiana ainda é pouco apurado, principalmente na cultura subsequente (ALVES *et al.*, 2023). Existe, portanto um obstáculo para entender as relações das comunidades fúngicas e bacterianas especialmente na fase de produção de grãos, em particular, o impacto da intensidade do pastejo animal na rizosfera.

A rizosfera é definida como a zona dinâmica do solo que circunda as raízes das plantas. Esta região tem se tornado um ponto focal de investigação devido ao seu papel crucial na ciclagem de nutrientes, na atividade microbiana, nas interações planta-micróbio e na saúde do solo (KUZYAKOV; RAZAVI, 2019). A saúde do solo por sua vez, é definida como a capacidade contínua de um solo funcionar como um ecossistema vivo que sustenta a produtividade biológica, mantém a qualidade ambiental e promove a saúde vegetal e animal (SHEN; TENG, 2023). Esse conceito é um aprimoramento da definição de qualidade do solo que foi proposto por Doran e Parkin (1994), mas destacando o papel do solo dentro desse ambiente vivo e que medeia a saúde, complementando ao conceito de “One Health” (BANERJEE; VAN DER HEIJDEN, 2023). Especificamente, a saúde do solo refere-se a rede biológica complexa multinível que é formada

por microrganismos, animais e plantas do solo que impulsiona o metabolismo e os processos de transformação e ciclagem de nutrientes (SHEN; TENG, 2023).

Visando compreender a saúde do solo dentro do contexto das funções do ecossistema, a utilização de índices de qualidade e saúde do solo (ISS) pode fornecer uma abordagem de base ecológica necessária para que os gestores agrícolas tomem decisões sustentáveis no manejo do solo (ANDREWS; CARROLL, 2001; BONETTI *et al.*, 2023). O ISS é amplamente utilizado para avaliar o impacto das práticas agrícolas na sustentabilidade do solo devido à sua simplicidade, versatilidade e flexibilidade quantitativa (BONETTI *et al.*, 2023; MAMEHPOUR *et al.*, 2021; REZAPOUR *et al.*, 2023). No entanto, poucos estudos até o momento exploraram o ISS como uma ferramenta de análise para examinar o efeito do componente animal e de diferentes intensidades de pastejo na saúde do solo e no agroecossistema.

Este artigo investiga a intrincada relação entre a intensidade do pastoreio animal, a saúde do solo e o rendimento da soja, sob a influência das comunidades microbianas que habitam a rizosfera. Ao explorar a complexa interação entre a gestão pecuária, a biologia do solo e a produtividade agrícola, pretendemos lançar luz sobre os processos ecológicos que sustentam o SIPA e informar a tomada de decisões baseada em evidências para o futuro da produção de alimentos. A hipótese central deste trabalho é que o componente animal aumenta a saúde do solo em SIPA, e esses benefícios são otimizados pela intensidade de pastejo moderada, promovendo maior diversidade e abundância da comunidade microbiana e a produtividade das culturas agrícolas. Desta forma, os objetivos específicos deste estudo foram investigar (i) se o componente animal e as variações na intensidade de pastejo podem auxiliar na melhoria da saúde do solo e na produtividade de sistemas integrados de produção agropecuária, (ii) identificar a intensidade de pastejo ideal para otimização do SIPA, (iii) como a comunidade microbiana na rizosfera da soja responde a estes manejos.

6.2. MATERIAIS E METODOS

6.2.1. Descrição da área e design experimental

O experimento consiste num sistema integrado de produção agropecuária implantado em 2001 em uma área de 22 hectares na Fazenda Espinilho (28°56'14"S, 54°20'52"W, 465 m de altitude), localizada em São Miguel das Missões – RS (Brazil). O clima da região é subtropical úmido, com temperatura média anual de 19 °C e precipitação média anual de 1850 mm (Figura S1). O solo é classificado como Latossolo Vermelho Distroférico típico (SANTOS *et al.*, 2018), correspondente a classe dos *Rhodic Hapludox* (SOIL SURVEY STAFF, 2014), e sua caracterização está descrita na Tabela 1.

Neste sistema integrado de produção agropecuária há o cultivo anual, em plantio direto de soja (*Glycine max* L.) cv. VTOP RR (novembro a maio) seguido do cultivo de azevém (*Lolium multiflorum* Lam.) cv. Fepagro (maio a novembro), integrado a entrada de bovinos de corte (*Bos indicus*), machos castrados, provenientes do cruzamento entre as raças Angus, Hereford e Nelore com idade entre 12 e 14 meses, e peso médio inicial de 253 kg. O experimento está disposto em delineamento experimental em blocos ao acaso com cinco tratamentos e três repetições, as parcelas experimentais variam de 0,9 a 3,6 hectares. Os tratamentos são constituídos de diferentes intensidades de pastejo definidas através da altura do pasto: i) alta (10 cm); ii) moderada (20 cm); iii) moderada-leve (30 cm); iv) baixa (40 cm); e v) ausência do pastejo (NG). Distribuídos em três blocos, conforme descrito na Figura 1. Na tabela S1 está disposto o histórico experimental desde 2001, com as datas de plantio, colheita, entrada e saída de animais, além de dados de adubação.

A soja recebeu o tratamento de inoculação com *Bradyrhizobium japonicum* na semente em todos os tratamentos, além da adubação com 90 kg ha⁻¹ de P₂O₅ no sulco de semeadura e 90 kg ha⁻¹ de K₂O a lanço. O azevém foi estabelecido por ressemeadura natural mais semeadura a lanço complementar (25 kg semente ha⁻¹), e teve adubação de cobertura com 48 kg de Ureia (45% de N), além da inoculação com *Azospirillum brasilense* e *Pseudomonas fluorescens* via pulverização.

As intensidades de pastejo foram obtidas variando-se a carga animal. O manejo para determinação da altura média do pasto ocorreu a cada 15 dias, sendo realizadas leituras em 100 pontos aleatórios dentro de cada área de estudo. Para isso, utilizou-se um bastão graduado (Sward Stick), cujo marcador desliza ao longo de uma régua até tocar a primeira lâmina foliar, permitindo assim a medição da altura do pasto (BARTHRAM, 1985). O método de pastoreio adotado foi o contínuo com lotação variável, com a presença de três animais fixos (testes) e adição de animais reguladores, utilizando a técnica put-and-take (MOTT; LUCAS, 1952). O início do ciclo de pastejo ocorreu em 19 de julho de 2021 e se estendeu até 2 de novembro de 2021, totalizando 106 dias de pastejo sem suplementação alimentar.

Tabela 1. Caracterização química e física do solo sob experimento na safra 2021/2022.

Trat.	pH (H ₂ O)	Na ⁺ mg dm ⁻³	Al ³⁺ ----- cmol _c dm ⁻³ -----	H+Al	SB	t	T	V	m	P _{rem} mg L ⁻¹	argila	silte	areia	BD g cm ⁻³
10 cm	5,13	7,2	0,33	6,67	8,03	8,36	14,69	54,5	4,3	29,88	52,0	25,3	22,7	1,18
20 cm	4,93	7,5	0,42	6,33	7,43	7,85	13,77	53,8	5,6	29,15	54,3	23,5	22,2	1,11
30 cm	4,85	6,5	0,43	7,45	6,99	7,42	14,44	48,5	5,1	27,80	55,0	26,2	18,8	1,25
40 cm	4,90	5,5	0,37	7,32	7,29	7,66	14,61	49,9	5,00	30,37	50,7	21,8	27,5	1,13
NG	4,88	6,7	0,58	8,48	6,77	7,35	15,25	42,0	9,6	29,20	52,5	24,2	23,3	1,19

NG = Sem pastejo; SB = soma de bases; t = capacidade de troca de cátions efetiva; T = capacidade de troca de cátions potencial; V = saturação por bases; m = saturação por alumínio; P_{rem} = fosforo remanescente e BD = densidade do solo

**Figura 1.** Croqui experimental do SIPA com diferentes intensidades de pastejo em São Miguel das Missões – RS (Brasil). NG – Sem pastejo.

6.2.2. Amostragem do solo

A amostragem do solo foi realizada quando mais de 50% das plantas de soja atingiram a fase de floração, em 24 de março de 2022 (safra 2021/2022 com 21 anos de implantação do experimento). Foram coletados aproximadamente 300 gramas de solo rizosférico (solo aderido às raízes) de cinco plantas por repetição. A coleta foi realizada mediante a agitação das raízes e a subsequente remoção do solo, que foi acondicionado em sacos plásticos. As plantas foram colhidas integralmente, seguindo uma seleção aleatória dentro da área de cultivo, com duas repetições por bloco. As amostras de solo foram devidamente armazenadas a uma temperatura de 4°C até a realização das análises químicas e bioquímicas. Para as análises físicas foi procedida uma coleta de solo com estrutura preservada, com o uso de cilindros de aço inox (63

mm de diâmetro por 25 mm de altura) na adjacência das plantas escolhidas na profundidade de 0 – 10 cm. O solo destinado a análise metataxonomica foi coletado em tubos Falcon de 50 mL estéreis e armazenados em ultrafreezer a -80 °C até a realização das análises.

6.2.3. Indicadores de saúde do solo

6.2.3.1. Análises químicas e físicas do solo

As amostras de solo foram secas ao ar e peneiradas em malha de 2 mm, em seguida foi procedida a determinação do pH em água (1:2,5), teor de fósforo, potássio, sódio, ferro, zinco, manganês e cobre pelo extrator Mehlich 1 (MEHLICH, 1953); teores disponíveis de cálcio, magnésio e alumínio pelo extrator KCl (1 mol L⁻¹; MCLEAN et al., 1958) e de enxofre pelo extrator fosfato monocálcio em ácido acético (HOEFT et al., 1973); também foi determinado a acidez potencial pelo extrator SMP (SHOEMAKER et al., 1961); o fósforo remanescente (Alvarez e Fonseca, 1990); o teor de boro extraído em água quente (RAIJ et al, 2001); o carbono orgânico total (TOC) pela oxidação em Na₂Cr₂O₇ 4N + H₂SO₄ 10N (WALKLEY; BLACK, 1934); e nitrogênio total pelo método Kjeldhal (KJELDAHL, 1883). As análises físicas incluíram a distribuição de tamanho das partículas do solo (granulometria) a partir do método da pipeta e densidade do solo e da partícula de acordo com Teixeira *et al.* (2017).

6.2.3.2. Análises bioquímicas do solo

As amostras de solo para as análises bioquímicas foram utilizadas sem nenhum tipo de processamento. Foram quantificadas as atividades das enzimas β-1,4-glicosidase (BG), fosfatase ácida (AcP) e arilsulfatase (ARS), e a atividade enzimática global por meio da quantificação da hidrólise do diacetato de fluoresceína (FDA; DICK, 2015). Também foram analisados a respiração basal do solo (SBR; ALEF, 1995), carbono e nitrogênio da biomassa microbiana (MBC; MBN; VANCE et al., 1987; BROKES et al., 1985), o quociente metabólico (qCO₂; ANDERSON E DOMSCH, 1993) e quociente microbiano

6.2.4. Índice de saúde do solo

A primeira etapa para o desenvolvimento do índice de saúde do solo constituiu na seleção das variáveis, foi conduzida uma análise de componentes principais (ACP) empregando o dataset completo composto por 38 variáveis (químicas, físicas e bioquímicas do solo). Na ACP, as sete primeiras componentes explicaram mais de 75% da variabilidade dos dados, justificando a seleção destas variáveis para discernir os atributos edáficos preponderantes na determinação da saúde do solo. Somente os atributos que contribuíram com mais de 1,5% para

a variabilidade total, conforme a soma das sete primeiras componentes, foram retidos. Dentre as 38 variáveis iniciais, 34 apresentaram contribuições superiores a esse limiar. Entretanto, variáveis dependentes tais como CTC e V%, e variáveis com coeficiente de correlação superior a 0,7 foram excluídas a fim de evitar multicolinearidade, permanecendo a variável com maior contribuição na ACP. Com este processo, foram selecionados 26 atributos do solo, os quais compõem o Conjunto Mínimo de Dados (MDS), que foi distribuído em quatro principais domínios funcionais do solo, sendo eles: Ciclagem de Nutrientes, sequestro de carbono, nutrição vegetal e suporte físico (Tabela 2). A normalização das medições foi realizada convertendo os valores de cada variável para uma escala de 0 a 1, empregando um modelo linear, onde foi utilizado a equação 1 (Eq. 1) para variáveis com respostas “mais é melhor”, e a equação 2 (Eq. 2) para variáveis com respostas “menos é melhor”. Em seguida procedeu-se a determinação dos pesos de cada variável calculado a partir da equação 3 (Eq. 3) utilizada no Nemoro Quality Index (NQI; MAMEHPOUR *et al.*, 2021). Uma vez realizada a normalização e atribuição de pesos (Tabela 2), as contribuições de todas as variáveis em cada domínio funcional foram agregadas para criar um índice primário, com valores entre 0 e 1. Posteriormente, a soma dos índices primários resultou no Índice de Saúde do Solo (ISS), com valores entre 0 e 4.

$$SL_1 = \frac{Xi - X_{min}}{X_{max} - X_{min}} \quad (Eq. 1)$$

$$SL_2 = \frac{X_{max} - Xi}{X_{max} - X_{min}} \quad (Eq. 2)$$

Em que SL é a pontuação linear da variável do solo (0 – 1), Xi é o valor observado, X_{min} e X_{max} são os valores mínimo e máximo de cada variável, respectivamente.

$$NQI = \sqrt{\frac{P_{ave} + P_{min}}{2}} \times \frac{n - 1}{n} \quad (Eq. 3)$$

Em que P_{ave} e P_{min} significam o valor médio e mínimo da variável estudada, respectivamente, e n o número amostral.

Tabela 2. Variáveis selecionadas para o conjunto mínimo de dados (MDS), distribuídas nos quatro domínios funcionais do solo e seus respectivos pesos dentro de cada função, calculados pelo NQI (Eq. 3).

Funções do Solo	Variável	Peso (%)
Ciclagem de nutrientes – NC (0 – 1)	Fosfatase ácida – AcP	33.99
	pH do solo – pH	4.55
	Fósforo remanescente – P_{rem}	10.84
	Nitrogênio da biomassa microbiana – MBN	7.75
	Nitrogênio total do solo – N	3.64
	Arilsulfatase – ARS	32.96
	Teor de enxofre no solo – S	6.27
Sequestro de carbono – CS (0 – 1)	Hidrolise do diacetato de fluoresceína – FDA	9.46
	Carbono orgânico total - COT	8.63
	β -Glicosidase – BG	50.45
	Carbono da biomassa microbiana – MBC	29.72
	Quociente metabólico - qCO_2	1.74
Nutrição vegetal – PN (0 – 1)	Teor de magnésio no solo – Mg	4.51
	Nitrogênio total do solo – N	5.51
	Teor de potássio no solo – K	37.83
	Teor de enxofre no solo – S	9.48
	Acidez potencial – H + Al	7.66
	Teor de cobre no solo – Cu	5.76
	Teor de boro no solo – B	1.17
	Teor de zinco no solo – Zn	3.69
	Teor de manganês no solo – Mn	24.39
Suporte físico – OS (0 – 1)	Teor de argila – Clay	33.55
	Teor de areia – Sand	17.38
	Densidade do solo – BD	5.46
	Densidade da partícula – PD	8.23
	Porosidade do solo - Por	35.38
ISS = NC + CS + PN + PS		400

ISS – Índice de Saúde do solo

6.2.5. Comunidade microbiana

Para a investigação do microbioma associado a rizosfera da soja, foram escolhidos três tratamentos incluindo 10 cm e NG, os quais representam os dois tratamentos mais extremos quanto a intensidade de pastejo, e 30 cm, tratamento com intensidade de pastejo intermediária. Para a extração do DNA do solo rizosférico foi utilizado o kit DNeasy PowerSoil (Qiagen) seguindo as respectivas especificações do fabricante.

O DNA foi amplificado nos segmentos de 16S para investigação de bactérias e ITS para fungos. Para o gene 16S rRNA foi amplificada a região V3-V4 com polimerase de alta fidelidade ambos os primers contêm uma região adaptadora Illumina e o primer reverso continha um código de barras de 12 pb para sequenciamento multiplex (F: CCTACGGGNGGCWGCAG) e (R: GACTACHVGGGTATCTAATCC) (CAPORASO *et al.*, 2012). Já a região de ITS foi amplificada com os primers ITS1f (CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA) e ITS2 (GCTGCGTTCTTCATCGATGC), os quais

também contêm uma região adaptadora Illumina e segmento para sequenciamento multiplex (SMITH; PEAY, 2014). Todas as reações de PCR foram realizadas com Phusion® High-Fidelity PCR Master Mix (New England Biolabs). Foi misturado o mesmo volume de tampão de carregamento 1X (contendo SYBR green) com produtos de PCR e conduzidos para a detecção em eletroforese com gel de agarose a 2%. Amostras com a banda entre 400 - 450bp foram encaminhadas para próxima etapa. Os produtos de PCR foram misturados em proporções de equidensidade. Em seguida, os produtos de PCR da mistura foram purificados com o Qiagen Gel Extraction Kit (Qiagen, Alemanha). As bibliotecas de sequenciamento foram geradas usando o kit NEBNext Ultra DNA Library Prep® para Illumina, seguindo as recomendações do fabricante e os index illumina foram adicionados. A qualidade da biblioteca foi avaliada no Qubit® 2.0 Fluorometer (Thermo Scientific) e no sistema Agilent Bioanalyzer 2100. As amostras foram sequenciadas em equipamento Illumina MiSeq, com comprimento médio de leituras de 250 pb pareados e volume mínimo de 30.000 leituras.

Os dados das regiões rDNA ITS e 16S foram submetidos a processamento prévio e estimativas de diversidade utilizando as ferramentas USEARCH versão 7.0.1090 (Edgar, 2010) e QIIME versão 1.9.1 (CAPORASO *et al.*, 2010), respectivamente. A clusterização das sequências foi conduzida empregando o método UPARSE com um critério de similaridade de 97%, seguindo o método UPARSE (EDGAR, 2013), conforme as recomendações do Brazilian Microbiome Project (PYLRO *et al.*, 2014), com a utilização do Sistema Operacional do BMP (BMPOS) (PYLRO *et al.*, 2016). Posteriormente, as sequências foram alinhadas com o banco de dados de referência UNITE (versão 9.0) (NILSSON *et al.*, 2018).

6.2.6. Indicadores de produtividade

A produtividade da soja foi determinada na maturidade total dos grãos com teor de umidade de 13%. Para isso cinco amostras foram coletadas aleatoriamente dentro de cada unidade experimental, cada uma contendo um metro linear de comprimento. Após a coleta as amostras passaram por debulha mecanizada, os grãos foram pesados e os resultados expressos em kg de grãos por hectare.

A massa de forragem (kg MS ha^{-1}) foi determinada através de tosquia ao nível do solo em cinco quadrantes de $0,25 \text{ m}^2$, localizados aleatoriamente por piquete antes do período de lotação e aproximadamente a cada 30 dias a partir de então. As amostras foram secas em estufa a 55°C durante 72 horas e pesadas. A média da massa de forragem do período de lotação foi calculada a partir da média de todos os subperíodos. A taxa diária de acúmulo de forragem ($\text{kg MS ha}^{-1} \text{ dia}^{-1}$) foi estimada utilizando três gaiolas de exclusão de pasto por piquete

(KLINGMAN *et al.*, 1943). A cada subperíodo, a forragem foi cortada em quadrantes de 0,25 m² em três locais aleatórios, e as gaiolas foram colocadas próximas. A forragem dentro das gaiolas foi cortada no subperíodo seguinte e a diferença na quantidade de MS entre as datas de amostragem foi considerada como forragem acumulada. A taxa diária de acúmulo de forragem de cada subperíodo foi obtida dividindo a forragem acumulada pelo número de dias entre os cortes. A média da taxa diária de acúmulo de forragem do período de lotação foi calculada a partir da média de todos os subperíodos.

A produtividade de forragem total (THP; kg MS ha⁻¹) foi calculada como a soma da massa inicial de forragem e das massas de forragem acumuladas de todos os subperíodos. Ao final do período de lotação, a Biomassa residual de forragem (RB; kg MS ha⁻¹) foi amostrada utilizando-se a mesma metodologia descrita para determinação da massa de forragem.

6.2.7. Análises estatísticas

As variáveis químicas, físicas e bioquímicas do solo, além das funções, índice de saúde do solo e dados de produtividade foram submetidas aos testes de normalidade (Shapiro Wilk, $P > 0.05$) e homogeneidade de variâncias (Bartlett, $P > 0.05$). Os dados das variáveis que não apresentaram distribuição normal e homogênea foram transformados por ranks. Foi desenvolvida uma ANOVA e no caso de significância as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a $P < 0.05$. Todas as análises estatísticas para estas variáveis foram realizadas no software estatístico JMP 13.2 (SAS Inst. Inc, Cary, NC, EUA).

Foi construída uma curva de regressão para o índice de saúde do solo e produtividade de grãos para indicar a altura de pastejo ideal para ambas as variáveis, nesta análise foi utilizado a média das alturas reais do pasto para cada tratamento, baseado num banco de dados com 1800 observações (Tabela S3; Figura S5). Uma análise adicional de bootstrap com 1000 repetições foi realizada em Phyton com a biblioteca numpy para assegurar a altura de pastejo ideal indicada pela curva de regressão.

As análises relacionadas a comunidade microbiana foram desenvolvidas no Software R. Os dados foram normalizados para uma profundidade de sequenciamento considerando a amostra com o menor número de leituras, calculando-se a média de 1.000 conjuntos de dados rarefados aleatoriamente sem substituição (CAMERON *et al.*, 2021). A riqueza de espécies, o estimador Chao1 e o índice de Shannon foram usados como métricas de diversidade alfa. Análise multivariada permutacional de variância (PERMANOVA) foi usada para comparar diferenças na composição das comunidades bacterianas e fúngicas ao nível de OTU e os resultados foram plotados usando análise de coordenadas principais (PCoA) baseada na métrica

de dissimilaridade de Bray-Curtis. Todas as análises de diversidade foram realizadas usando o pacote *vegan* (OKSANEN *et al.*, 2022).

A construção de redes coocorrência foi baseada na análise multivariada de correlação pelo método Pairwise. Correlações fortes (<-0.7 e >0.7) e com $P < 0.05$ das OTU's bacterianas e fúngicas com mais de 0.7% de abundância relativa foram utilizadas no Software Gephi 0.10.1 para construção das redes de coocorrência.

6.3. RESULTADOS

6.3.1. Índice de saúde do solo (ISS) e produtividade

As diferentes intensidades de pastejo acarretaram mudanças importantes nas funções do solo, tendo efeito no ISS (Figura 2). Os tratamentos com intensidade de 30 e 40 cm de pastejo apresentaram o maior potencial para função ciclagem de nutrientes, 0.51 e 0.61, respectivamente. Bem como, as intensidades de pastejo 20, 30 e 40 cm atingiram 69, 60 e 60 % da capacidade para o sequestro de carbono, respectivamente. As funções nutrição vegetal e suporte físico não foram afetadas pelos diferentes tratamentos (Figura 2). O somatório das funções do solo demonstra que os tratamentos 20, 30 e 40 são as estratégias de manejo do pastejo animal que acarretam os mais altos índices de qualidade do solo, com valores superiores a 50% (Figura 2).

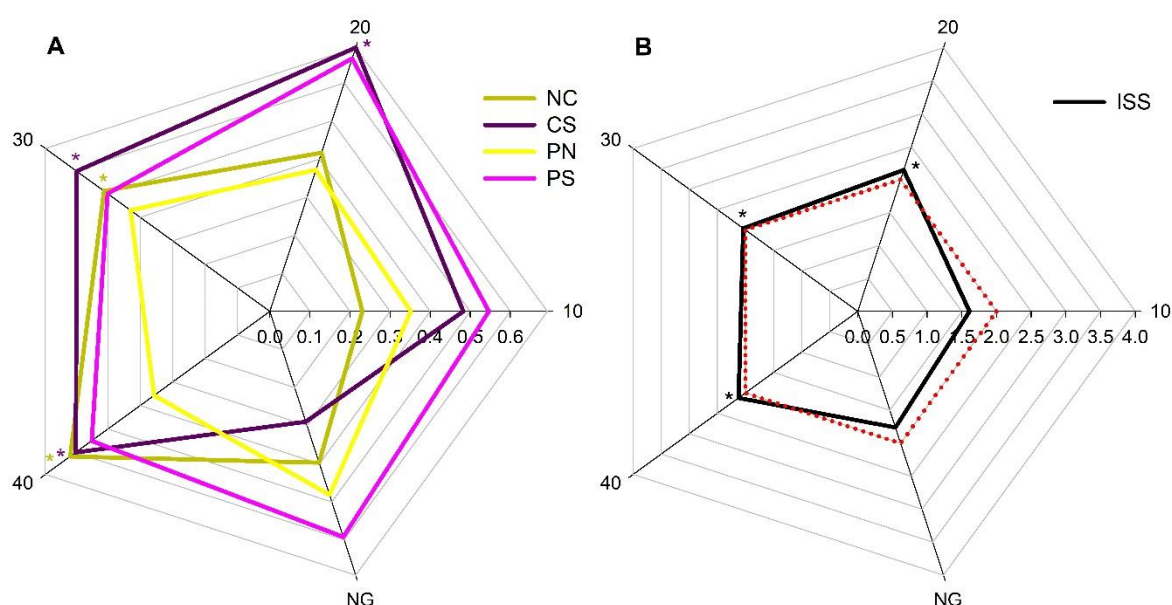


Figura 2. Funções do solo (A) e Índice de saúde do solo - ISS (B) do sistema integrado de produção agropecuária sob diferentes intensidades de pastejo. NG = Sem pastejo; NC = Ciclagem de nutrientes; CS = Sequestro de carbono; PN = Nutrição vegetal, e PS = Suporte físico; Linha vermelha tracejada indica 50% da saúde do solo; (*) indicam os melhores tratamentos de acordo com o teste de Tukey ($P < 0.05$).

O aumento da intensidade de pastejo acarretou redução da produção de grãos de soja e da massa residual de forragem, embora não tenha afetado a produção total de massa seca de forragem (Figura 3). A intensidade de pastejo leve (40 cm) apresentou o maior índice de produtividade de grãos, embora não diferencie das intensidades de 30 e 20 cm, com acréscimo de 756 kg em relação ao tratamento com maior intensidade (10 cm) e 237 kg em relação ao sistema não pastejado (Figura 3A). A massa residual de forragem foi reduzida em torno de 80, 50 e 30 % nos tratamentos 10, 20 e 30 cm, respectivamente, em relação aos tratamentos 40 cm e NG (Figura 3C).

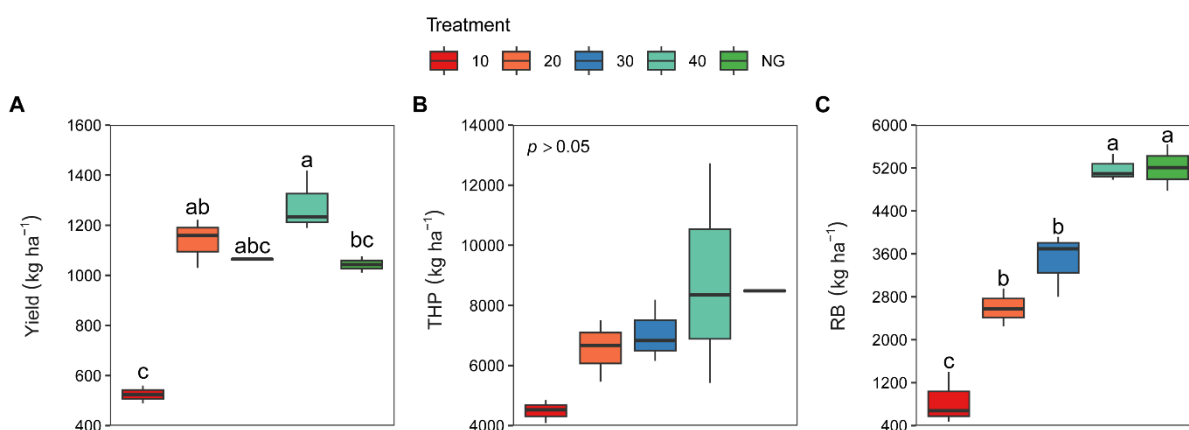


Figura 3. Yield – Produtividade de grãos de soja (A); THP – Produção total de forragem (B); RB – Biomassa residual de forragem no sistema integrado de produção agropecuária sob diferentes intensidades de pastejo. NG = Sem pastejo; Letras minúsculas indicam diferenças significativas entre os diferentes tratamentos pelo teste Tukey ($P < 0.05$). Os boxplot representam a distribuição de três repetições.

Ao avaliar a curva de regressão do ISS e Yield em relação as alturas reais do pasto em cada tratamento é observado que o ISS e Yield apresentaram curvas de distribuição quadráticas em relação à altura do pasto (intensidade de pastejo), com R^2 de 0.62 e 0.87, respectivamente (Figura 4). As curvas de regressão junto a análise de bootstrap demonstram que a altura de pastejo ótima para promover a saúde do solo é de 26 cm e para atingir maiores índices de produtividade de grãos foi 32 cm. O comportamento de ambas as curvas (ISS e Yield) seguiu o mesmo padrão, demonstrando uma correlação positiva e significativa ($r=0,67$; $p<0,0002$; Figura S2), entre a saúde do solo e o rendimento de grãos da soja na área de estudo.

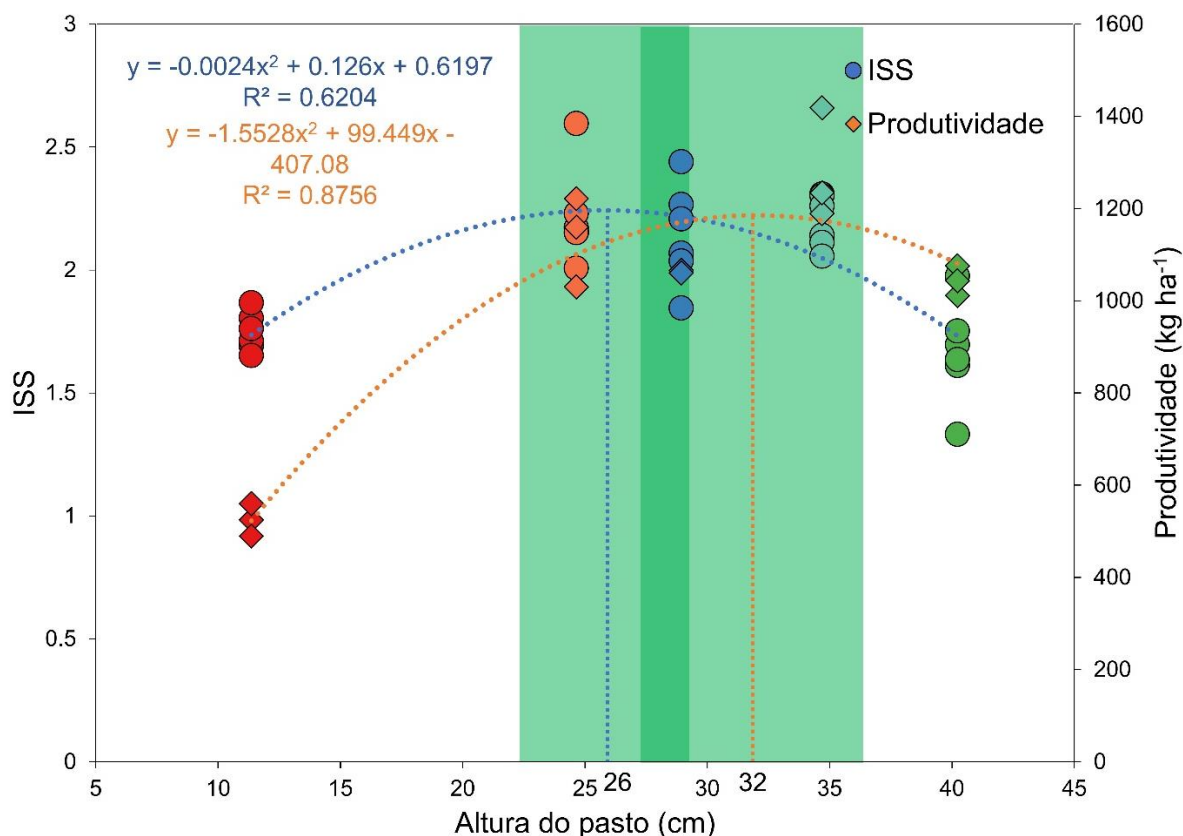


Figura 4. Curva de regressão do Índice de saúde do solo (ISS) e da Produtividade de grãos em sistema integrado de produção agropecuária com diferentes alturas do pasto. Foram utilizadas as médias das alturas reais do pasto durante o pastejo dos animais em 2021, que estão expressas na figura S5. Barras indicam o desvio padrão das observações da altura do pasto para as alturas ótimas indicadas pelas curvas de regressão e análise de bootstrap.

6.3.2. Análise da comunidade microbiana

As diferentes intensidades de pastejo acarretam mudanças importantes na comunidade fúngica e bacteriana da rizosfera da soja de acordo com as métricas de riqueza de espécies (Observed e Chao1) (Figura 5). O tratamento com intensidade moderada de pastejo (30 cm) proporciona um aumento na riqueza da comunidade bacteriana (Figura 5A e B). Enquanto a maior intensidade de pastejo (10 cm) reduz a riqueza de espécies bacterianas e fúngicas na rizosfera da soja (Figura 5D e E). Por outro lado, a aplicação do índice de Shannon não foi possível observar mudanças na comunidade bacteriana e fúngica em relação as intensidades de pastejo (Figura 5C e F).

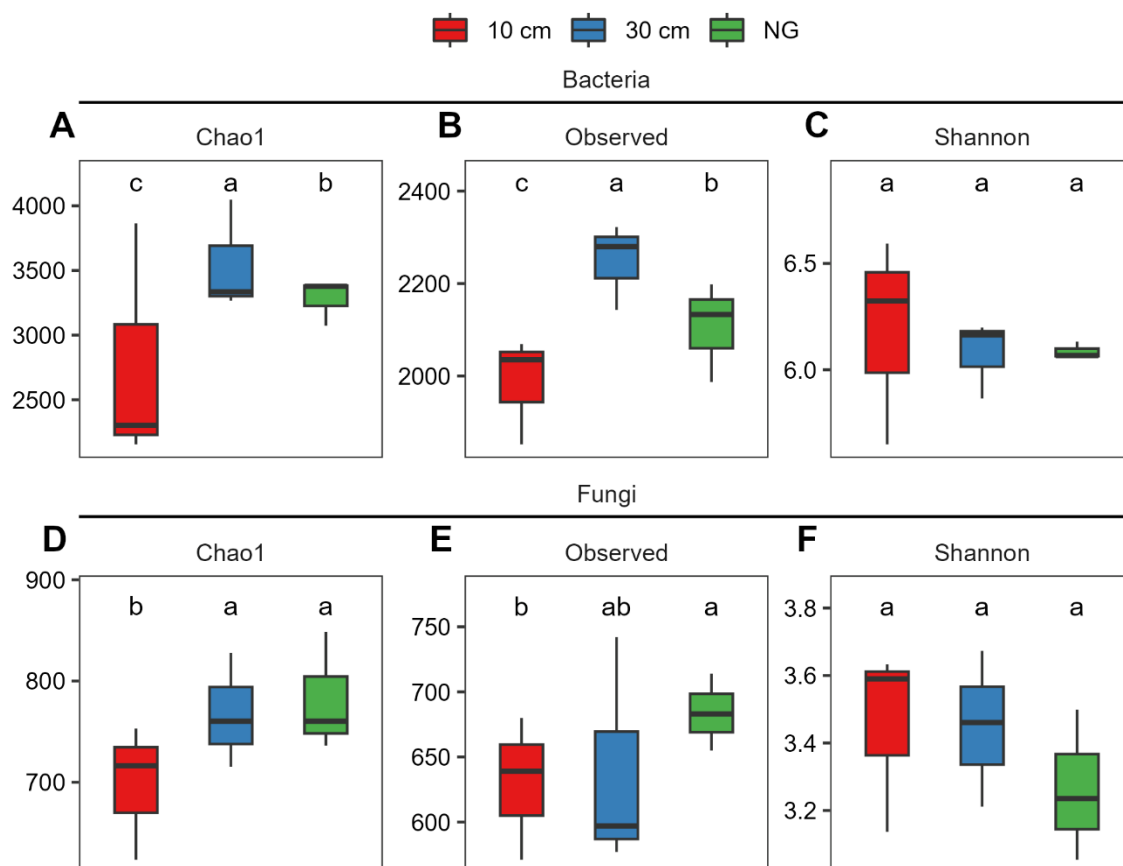


Figura 5. Índices de diversidade alfa (Chao1, Observed e Shannon) para a comunidade bacteriana (A, B e C) e fúngica (D, E e F) na rizosfera da soja em Sistemas integrados de produção agropecuária sob diferentes intensidades de pastejo. NG = Sem pastejo.

Os padrões observados na PcoA demonstram que as comunidades fúngicas e bacterianas nos tratamentos 30 cm e NG apresentam maior similaridade interna, enquanto o tratamento de 10 cm apresenta alta variabilidade interna (Figura 6). A PerMANOVA demonstra ausência de diferença espacial na composição das comunidades microbianas da rizosfera da soja nas diferentes intensidades de pastejo ($P < 0.05$; Figura 6A e B).

O perfil taxonômico mostrou que a comunidade bacteriana na rizosfera da soja nos tratamentos com diferentes intensidades de pastejo foi dominada por organismos dos Filos Acidobacteria, Proteobacteria e Firmicutes, sendo as classes mais expressivas Alphaproteobacteria, Bacilli, Thermoleophila e Acidobacteriia. As famílias bacterianas mais abundantes foram: Bacillaceae, Xanthobactereaceae, Solibacteraceae e Burkholderiaceae (Figura 7).

Já para comunidade fúngica o perfil taxonômico foi representado por organismos de quatro filos, sendo eles: Ascomycota, Mortierellomycota, Mucoromycota e Basidiomycota. As classes fúngicas mais abundantes foram: Mortierellomycetes, Sordariomycetes e Mucoromycetes que juntas somam mais que 70% da abundância de fungos na rizosfera da soja.

Entre as famílias fúngicas mais abundantes estão Mortierellaceae, Nectriaceae, Cunninghamellaceae e Hypocreaceae (Figura 7).

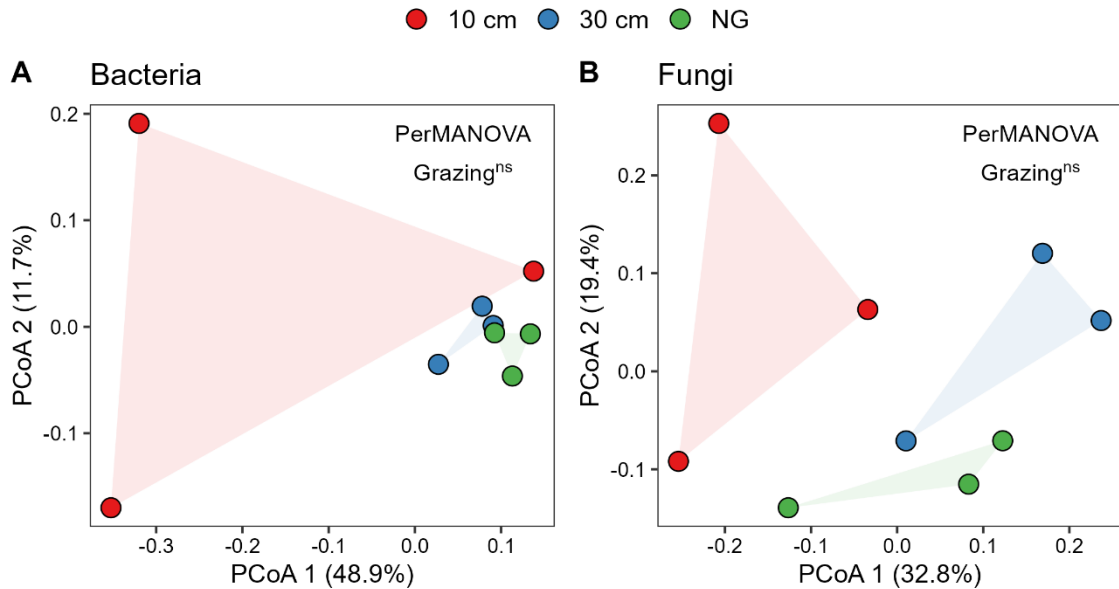


Figura 6. Diversidade beta (PcoA) da comunidade bacteriana (A) e fúngica (B) na rizosfera da soja em Sistemas integrados de produção agropecuária sob diferentes intensidades de pastejo. NG = Sem pastejo.

Ao examinar a diferença entre a abundância relativa (RA) das famílias bacterianas e fúngicas com maior expressão na rizosfera da soja ($RA > 0.1\%$) foi possível observar que o pastejo animal em sua maior intensidade (10 cm) reduz a abundância da maioria das famílias bacterianas e fúngicas, com reduções superiores a 50% para as famílias Ktedonobacteraceae e Enterobacteriaceae (Bactérias), Cladosporiaceae, Pleosporaceae, Chaetosphaeriaceae, Bionectriaceae, Chaetomiaceae, Trimorphomycetaceae e Cunninghamellaceae (Fungos). Por outro lado, a ausência do componente animal (NG) reduz a abundância das famílias Ruminococcaceae, Lachnospiraceae, 67.14 e Gemmatimonadaceae (Bactérias), e Didymellaceae (Fungos). Bem como, aumenta a abundância de organismos das famílias Acidobacteriaceae, Mycobacteriaceae e Enterobacteriaceae (Bactérias), e Chaetosphaeriaceae, Trimorphomycetaceae e Mortierellaceae (Fungos; Figura S3).

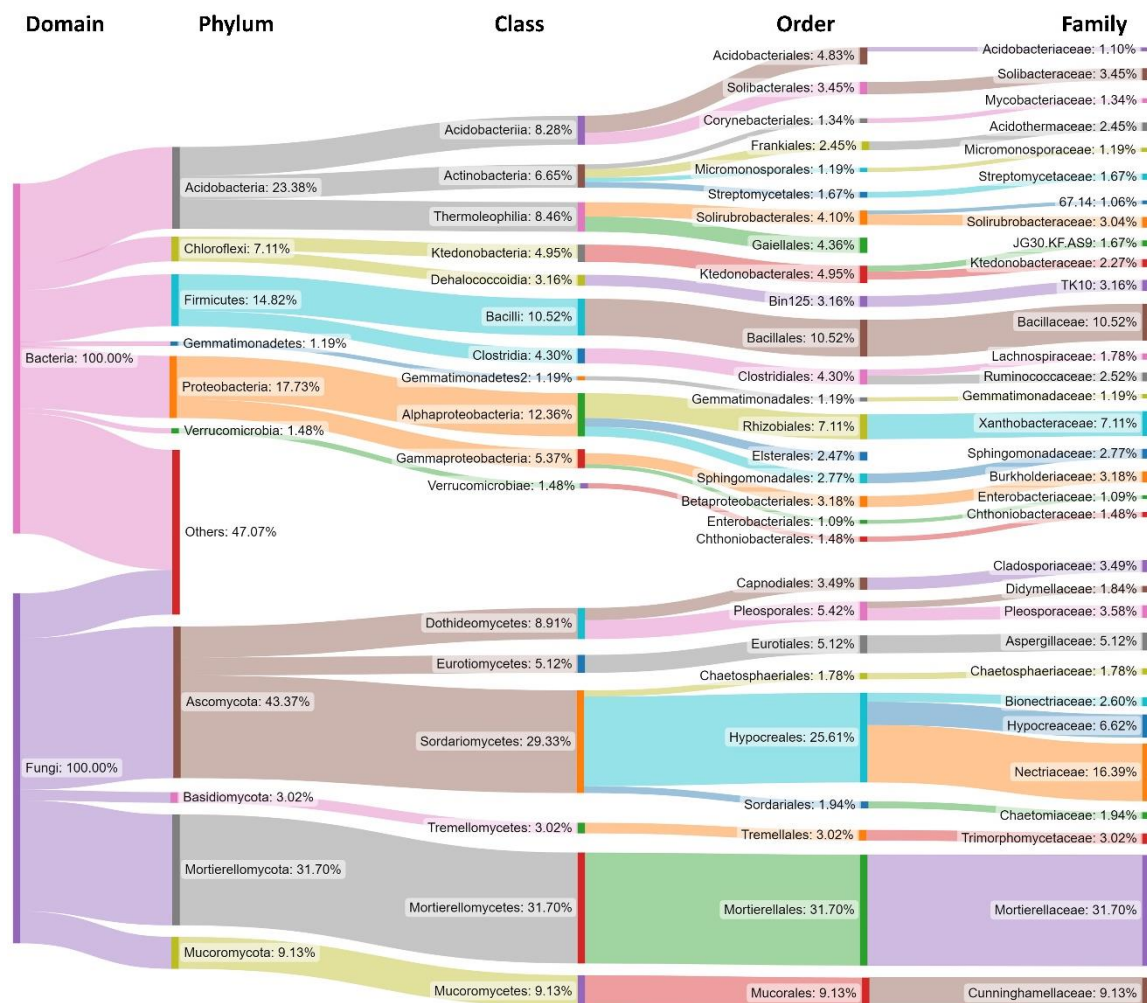


Figura 7. Diagrama de Sankey com a abundância relativa média e classificação taxonômica das bactérias e de fungos na rizosfera da soja em SIPA (média dos três tratamentos).

Dentro da comunidade microbiana total da rizosfera da soja 26 famílias de bactérias e 27 famílias de fungos tiveram sua abundância afetada pelas diferentes intensidades de pastejo em relação ao tratamento não pastejado. Há uma tendência geral de aumento da abundância das bactérias na rizosfera das plantas sob os manejos onde há o pastejo animal, no entanto, o inverso é observado para comunidade fúngica (Figura 8).

As famílias bacterianas que apresentaram maior abundância em ambas as intensidades de pastejo em relação a NG foram: Dermatophilaceae e Rukobacteria, além de famílias não identificadas dentro dos filos Acidobacteria e Cloroflexi. Dentre as famílias que tiveram a abundância regulada negativamente pela ação do pastejo animal estão: Acidobacteriaceae, Actinospicaceae, Spirochaetaceae, e famílias não identificadas dentro dos filos Cyanobacteria, Patescibacteria, e WPS-2, todas na intensidade de 10 cm, e apenas uma família do filo Proteobacteria regulada negativamente na intensidade de 30 cm em relação ao NG (Figura 8A).

Para comunidade fúngica a resposta geral foi de redução da abundância das famílias

devido o pastejo animal, sendo o tratamento com maior intensidade de pastejo o mais afetado (15 táxons). O pastejo animal provocou redução em ambas as intensidades para as famílias Dermateaceae e para uma família dentro da ordem Onygenales. Por outro lado, alguns táxons foram regulados positivamente pelo pastejo, sendo eles: Helminthosphaeriaceae, Leptosphaeriaceae, Savoryellaceae e famílias dentro das ordens Pleosporales e Xylariales (10 cm), Tremellaceae e uma família da ordem Xylariales (30 cm; Figura 8B).

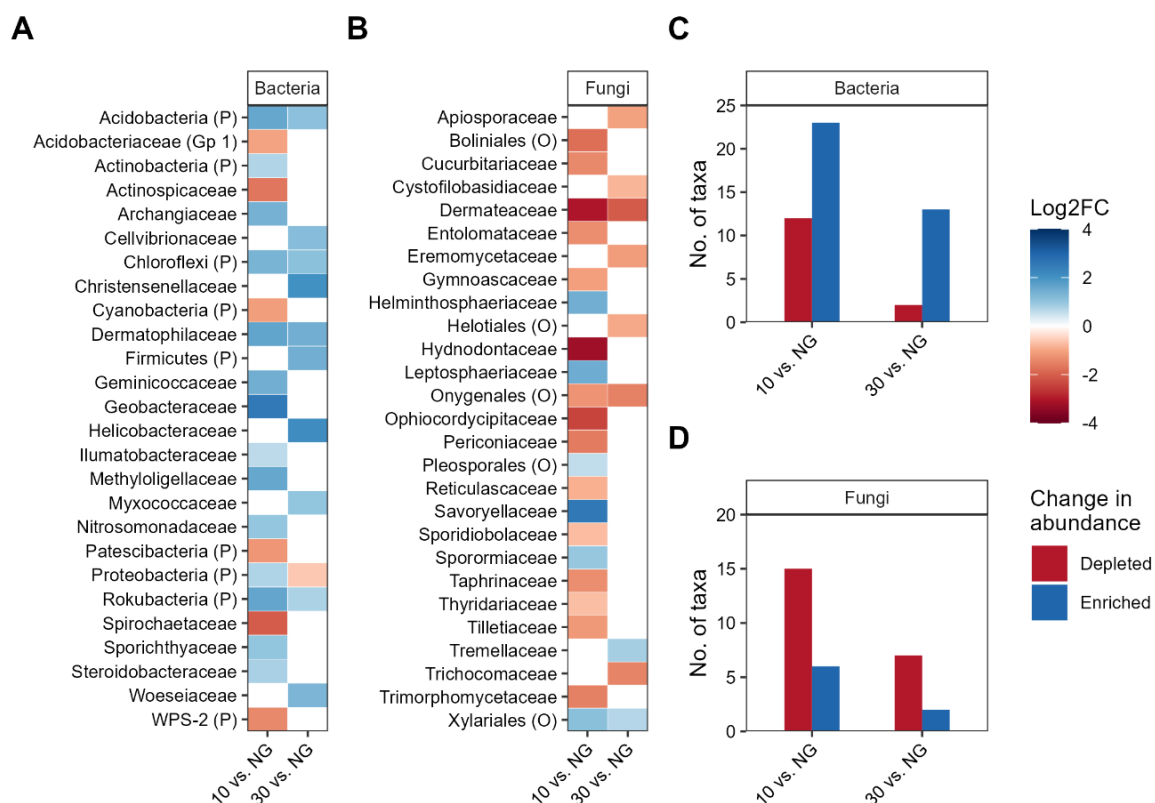


Figura 8. Heatmap das espécies de DSE e de fungos na rizosfera da soja mais responsivos as intensidades de pastejo 10 cm, 30 cm em relação ao tratamento sem pastejo (A); Diagrama de Venn com a distribuição dos gêneros de fungos (B) e de DSE (C) nos diferentes tratamentos com intensidades de pastejo.

De toda a comunidade microbiana identificada, 49% dos táxons bacterianos e 44.3% dos táxons fúngicos ocorrem na rizosfera da soja nos três tratamentos com diferentes intensidades de pastejo. Isoladamente o tratamento com intensidade de pastejo de 10 cm apresentou maior porcentagem de táxons bacterianos (11.5%) e fúngicos (14.7%) que não ocorrem nos demais tratamentos. Ao todo os tratamentos com pastejo animal apresentaram 1344 táxons bacterianos (30.4%) e 387 táxons fúngicos (27.2%) que não ocorrem na área sem pastejo (Figura 9)

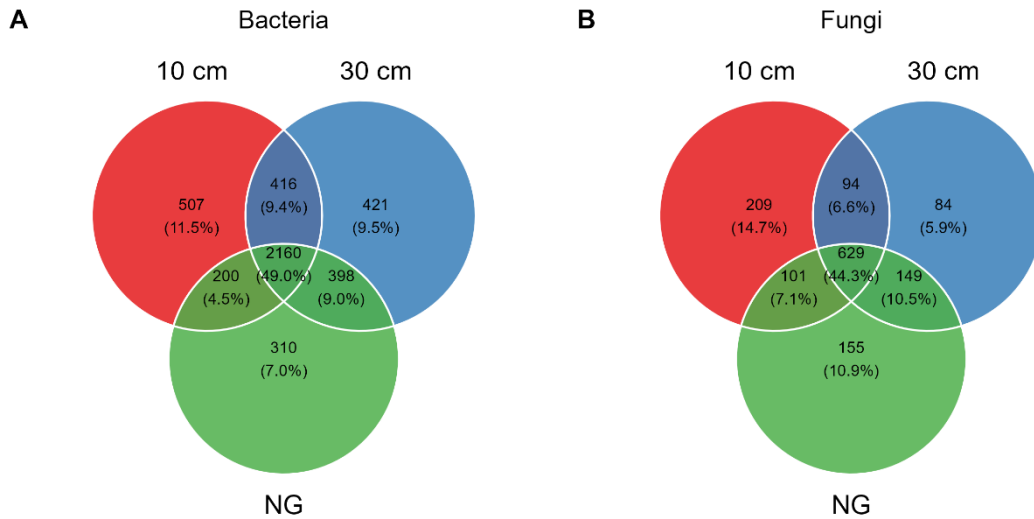


Figura 9. Diagrama de Venn para comunidade bacteriana (A) e fúngica (B) na rizosfera da soja em SIPA sob 10 cm e 30 cm de altura do pastejo e NG = Sem pastejo.

A partir do desenvolvimento de redes baseadas em padrões de coocorrência foi possível observar distintas assembleias comunitárias de fungos e bactérias nas diferentes intensidades de pastejo no SIPA (Figura 10). Na intensidade de pastejo de 10 cm foi observado um maior número de arestas, grau médio, densidade do grafo e de inferências estatísticas. Por outro lado, a intensidade de pastejo moderada (30 cm) apresentou um maior número de nós, diâmetro da rede, comprimento médio da rede, componentes conectados e modularidade. Já o tratamento sem pastejo apresentou apenas maior coeficiente de agrupamento médio (Figura 10, Tabela 3).

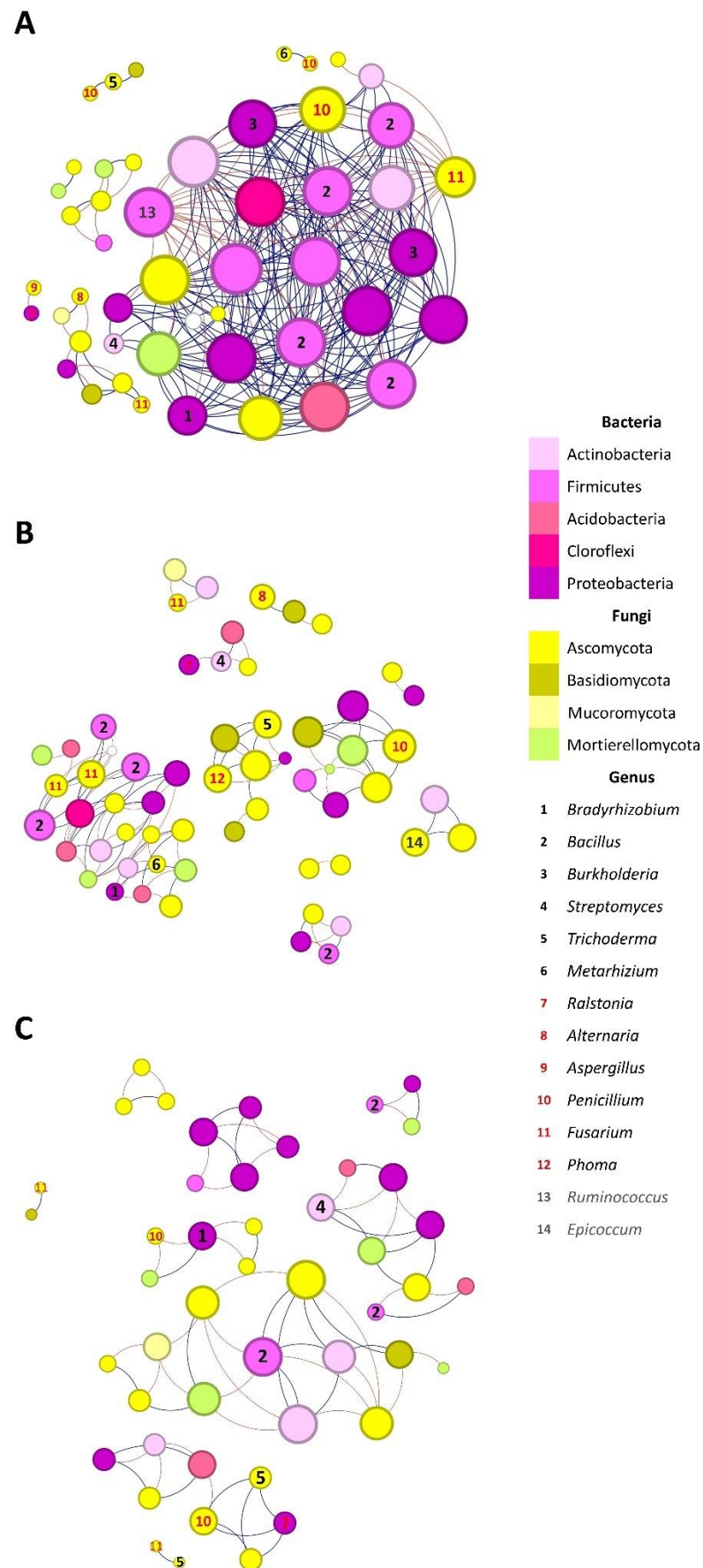


Figura 10. Rede de coocorrência das OTU's bacterianas e fúngicas mais abundantes (RA > 0.5%) nas diferentes intensidades de pastejo em SIPA. A – 10 cm, B – 30 cm e C – sem pastejo.

Tabela 3. Propriedades topológicas das redes de coocorrência obtidas dentro das diferentes intensidades de pastejo.

Grazing height (cm)	Bacteria + Fungi		
	10 cm	30 cm	NG
Número de nós ^a	49.00	60.00	48.00
Número de linhas ^b	254.00	98.00	74.00
Grau médio ^c	10.37	3.27	3.08
Diâmetro de rede ^d	6.00	13.00	5.00
Densidade do gráfico ^e	0.22	0.06	0.07
Componentes conectados ^f	7.00	10.00	9.00
Modularidade ^g	0.20	0.81	0.80
Inferências estatísticas ^h	708.88	383.69	281.63
Coeficiente médio de agrupamento ⁱ	0.80	0.72	0.82
Comprimento médio do caminho ^j	1.67	3.89	1.83

^a número de OTUs com pelo menos uma correlação <-0.7 ou >0.7 e estatisticamente significativa ($P < 0,05$) pelo teste pairwise;

^b Número de conexões; número de correlações fortes e significativas entre nós;

^c Média do número de interações que cada nó possui;

^d A maior distância entre os nós que existe na rede (medida em arestas; Newman, 2003);

^e A proporção das interações observadas em relação ao total possível de interações;

^f Conectividade do nó; mostra quantas conexões (em média) cada nó tem para outro nó único na rede.

^g Distância média da rede entre todos os pares de nós. Ele indica o número de passos que uma pessoa precisa fazer em média no grafo para conectar dois nós selecionados aleatoriamente (Newman, 2003).

^h Como os nós estão inseridos em sua vizinhança e, portanto, o grau em que eles tendem a se agrupar.

ⁱ Modularidade $>0,4$ indica que a partição produzida pelo algoritmo de modularidade pode ser usada para detectar comunidades distintas dentro da rede. Indica que existem nós na rede que estão mais densamente conectados entre si do que com o restante da rede e que sua densidade é visivelmente maior que a média do grafo (Newman, 2006).

6.4. DISCUSSÃO

6.4.1. Saúde do solo e produtividade

Os resultados confirmam a hipótese de que a presença do componente animal e o manejo do pastejo em intensidades moderadas promovem a saúde do solo e aumentam a produtividade de grãos da soja (Figuras 2, 3 e 4). Estes resultados estão alinhados com estudos anteriores, e destacam a importância do manejo correto do pastejo e lotação animal para garantir a saúde do solo e maior produtividade do sistema (BYRNES *et al.*, 2018; CARVALHO *et al.*, 2018; NUNES *et al.*, 2021).

Em longo prazo (21 anos da implantação do experimento), o efeito positivo do pastejo foi observado através do aumento dos teores de N, P, Mg e TOC, elevação do pH (diminuição da acidez) e da saturação por bases do solo rizosférico da cultura subsequente (soja; Tabela S4). Esses aumentos também foram observados para o carbono e o nitrogênio da biomassa microbiana (com incremento médio de 34 e 50% em relação ao tratamento não pastejado), e para a atividade das enzimas β -glicosidase (BG), arilsulfatase (ARS), fosfatase ácida (AcP), e hidrólise do diacetato de fluoresceína (FDA), além de sua resposta agregada via índice GMean

(Tabela S4). O aumento dessas variáveis reflete diretamente no índice de saúde do solo calculado, o que sugere um aumento no desempenho das funções e, por consequência, na saúde do solo.

A faixa de pastejo entre 20 a 30 cm tem sido indicada por diferentes autores para o azevém (KUNRATH *et al.*, 2014, 2020; SOUZA FILHO *et al.*, 2019; WESP *et al.*, 2016). Em um estudo de longa duração (16 anos), Kunrath *et al.* (2020) mostrou que essa faixa está relacionada principalmente a ganhos na produção animal e qualidade do pasto. No presente estudo foi evidenciado que a faixa ótima está entre 26 e 32 cm. O que apresenta uma faixa mais precisa para indicar a intensidade de pastejo ideal que garante, além dos benefícios apontados por Kunrath *et al.* (2020), a maior saúde do solo e produtividade de grãos ($p < 0.05$, $R^2_{ISS} = 0.62$, $R^2_{Yield} = 0.87$, Figura 4).

Um dos principais pilares do SIPA é promover a produção animal sem que isso comprometa o rendimento das colheitas (NUNES *et al.*, 2021), a utilização de estratégias que considerem ambos os componentes e ainda otimizem a produção de grãos são mais atrativas, em vista da maior lucratividade do sistema (TAVARES *et al.*, 2024). Assim, pesquisas que visem investigar diferentes aspectos do SIPA podem auxiliar os produtores em suas tomadas de decisão, elucidando a necessidade de manter ou aumentar a saúde do solo e da intensificação agropecuária sustentável.

Neste estudo foram compilados 26 atributos para inferir de forma robusta sobre quatro principais funções ecossistêmicas do solo (Figura 2). A ciclagem de nutrientes (NC) e o sequestro de carbono (CS) foram as funções mais responsivas para evidenciar as alterações promovidas pelas diferentes intensidades de pastejo. O que refletiu num maior índice de saúde do solo para as intensidades de pastejo entre 20 e 40 cm (Figura 4). Estas intensidades de pastejo acompanham os princípios da hipótese de perturbação intermediária (TILMAN E DOWNING 1994), nelas uma maior produção e qualidade de forragem é observada, assim como maior produção de biomassa residual, ocasionando também maior permanência da palhada no sistema, proteção do solo e retenção de umidade (MARTINS *et al.*, 2016; SOUZA FILHO *et al.*, 2019), afetando ambas as funções do solo, principalmente pela mudança que eles ocasionam na comunidade microbiana da rizosfera da cultura subsequente, tanto na densidade, quanto na diversidade e funcionalidade (Tabela S4 e Figura 5).

As variáveis que apresentaram maior peso no cálculo das funções do solo foram as enzimas extracelulares e o carbono associado a biomassa microbiana [Sequestro de carbono (BG – 50,45%, MBC – 29,72%) e Ciclagem de Nutrientes (AcP – 33,99%, ARS – 32,96%); Tabela 2], mostrando sua sensibilidade na detecção de mudanças nos sistemas de manejo (DOS

SANTOS *et al.*, 2022), e a importância de atributos bioquímicos na composição de índices de saúde do solo. A atividade da enzima β -glicosidase contribui na conversão de compostos celulósicos em glicose, sendo, portanto, uma etapa importante no processo inicial do estoque de carbono no solo e no fornecimento de energia para comunidade microbiana (GIRI *et al.*, 2022). Os resíduos vegetais são o principal pool de entrada de carbono. Todavia, é necessário que este material seja decomposto a fim de contribuir com as funções do solo. Para que isso ocorra é necessário que além da β -glicosidase outras enzimas também estejam atuantes, como a fosfatase e a arilsulfatase, que são parte integrante dos ciclos biogeoquímicos do P e do S, e da formação do húmus. Os SIPAs são amplamente conhecidos por aumentar o estoque de carbono e a ciclagem de nutrientes no solo (BANSAL *et al.*, 2022; BONETTI *et al.*, 2023; TAVARES *et al.*, 2024), no entanto, a comunidade microbiana e sua atividade são a força motriz para tais transformações, impulsionando inclusive a produtividade destes sistemas.

Neste estudo a maior intensidade de pastejo acarretou redução da produtividade de grãos da soja, bem como as alturas moderadas de pastejo apresentaram os mais altos desempenhos (Figura 3). Nos tratamentos onde há maior intensidade de pastejo, menor é a biomassa residual após o pastejo, o que reduz a entrada e permanência de resíduos na cobertura do solo, logo, na sua proteção contra intempéries. Este processo pode facilitar a perda de água e a incidência de processos erosivos, durante o estabelecimento da soja, excepcionalmente em anos onde a distribuição pluviométrica nas safras tem sido fortemente impactada pelas constantes mudanças climáticas (Figura S1; BATTISTI *et al.*, 2018; GRIMM *et al.*, 2020; DOS SANTOS *et al.*, 2023). Tudo isso afeta diretamente a atividade biológica e seu funcionamento nestas estratégias de manejo, reduzindo assim a saúde do solo e por consequência a produtividade agrícola. Historicamente neste protocolo experimental a produtividade da soja não é alterada pelas diferentes intensidades de pastejo (DELANDMETER *et al.*, 2024; PETERSON *et al.*, 2019). Contudo, observou-se que, durante períodos de alterações climáticas acentuadas, como as ocorridas no ano em questão deste estudo, as estratégias de manejo do solo que promovem uma resposta mais efetiva à saúde do solo apresentam também maior responsividade na produtividade agrícola.

6.4.2. Comunidade microbiana da rizosfera da soja

Os resultados revelam insights significativos sobre a complexa interação entre a comunidade microbiana da rizosfera da soja e as práticas de manejo agrícola. A alta responsividade do componente vegetal (soja) na montagem de seu microbioma rizosférico tem sido relatada amplamente (CHAPARRO *et al.*, 2014; DASTOGEER *et al.*, 2020; SUGIYAMA,

2019), e aqui também demonstrou grande potencial de influenciar a composição microbiana da rizosfera nas diferentes condições de pastejo animal (Figura S4). Entretanto, nossas descobertas demonstram que as comunidades bacterianas e fúngicas na rizosfera da soja são sensíveis também às variações na intensidade de pastejo na cultura antecessora, o que pode ter implicações importantes para a saúde do solo e, consequentemente, para a produtividade das culturas.

O componente animal pode influenciar de diferentes formas a construção do microbioma do solo, que por sua vez tem efeito no microbioma rizosférico. Uma das formas é a deposição de resíduos orgânicos altamente nutritivos (excretas), visto que, as diferentes fontes de carbono e nitrogênio podem contribuir para o desenvolvimento de diferentes grupos de organismos. Uma segunda via seria relacionada aos microrganismos presentes no microbioma ruminal, que podem via excretas inocular o solo (ATTWOOD *et al.*, 2019). Além da via relacionada a herbivoria, e como esta atividade pode influenciar o crescimento vegetal superficial, subsuperficialmente influenciando a liberação de substâncias e exsudatos radiculares, que por sua vez, estimulam o desenvolvimento microbiano, bem como, pelo ato do caminhar e possibilidade de compactação do solo. Assim, o componente animal e o ato de pastejo acarretam modificações complexas nos diferentes tratamentos (Figura 10 e S3). O componente animal e sua microbiota funcionam como catalisadores na transformação da pastagem em compostos orgânicos (MORAES *et al.*, 2014; CARVALHO *et al.*, 2018). Nos tratamentos com presença de animais, os resíduos chegam ao sistema solo com uma porcentagem de fontes de carbono facilmente decomponíveis mais elevada, além da deposição de nitrogênio (SONG *et al.*, 2023; ZAGATO *et al.*, 2018), estimulando assim um aumento na população de grupos bacterianos, como visto na Figura 8, onde as famílias Acidobacteriaceae, Actinospicaceae, Cellvibrionaceae, Christensennellaceae, Myxococcaceae e Steroidobacteraceae tiveram sua abundância relativa aumentada pela presença do componente animal, e são famílias que contêm espécies que atuam na degradação de compostos orgânicos simples, como glucanos, xilanos, D-glicose e D-xilose, geralmente presentes em excretas de bovinos (BAO *et al.*, 2021; KALAM *et al.*, 2020; WOLIŃSKA *et al.*, 2018; KIELAK *et al.*, 2016; VANCOR *et al.*, 2015). Em contraste, nos tratamentos sem pastejo, a deposição de fontes simples de carbono no sistema solo é limitada (via excretas), como também, há a ausência do controle no crescimento da pastagem, que por sua vez leva à produção de mais fibras no tecido vegetal e em seguida à sua senescência. Desta forma, há uma maior entrada de resíduos que apresentam uma decomposição mais lenta, com maior relação C/N, estimulando a predominância de fungos, devido seu papel crucial no ataque a compostos mais recalcitrantes

(HORWATH, 2008), como visto pelo aumento da abundância de fungos das famílias Gymnoascaceae, Hydnodontaceae e Perconiaceae (Figura 8), compostas por organismos que atuam na decomposição de resíduos orgânicos mais recalcitrantes, como por exemplo a hemicelulose e lignina (SCHLATTER *et al.*, 2017; STUART *et al.*, 2024; ZHAO; ZHAO, 2021). Essas alterações na abundância das comunidades bacterianas e fúngicas devido à ausência do componente animal podem acarretar distúrbios que afetam a saúde do solo, como visto por exemplo pela maior abundância de famílias de fungos conhecidos como fitopatogênicos na rizosfera da soja no tratamento sem pastejo, como: Apiosporaceae, Cucurbitariaceae, Dermateaceae, Taphrinaceae e Tilletiaceae (Figura 8, WIJAYAWARDENE *et al.*, 2014; HAO *et al.*, 2020; ZHENG; ZHUANG, 2022).

A presença do animal contribui com mais de 1300 OTU's bacterianas e 380 OTU's fúngicas específicos para o microbioma rizosférico (Figura 9) e devido as alterações dessa comunidade microbiana diferentes padrões de coocorrência são formados (Figura 10). Por exemplo na intensidade de pastejo de 10 cm foi observado um maior número de arestas e maior grau médio, indicando uma maior frequência de interações e sugerindo que os microrganismos estão mais densamente conectados. A densidade do grafo também foi maior, indicando uma maior proporção de interações reais em relação ao número máximo possível de interações. Além disso, as inferências estatísticas indicaram uma complexidade significativamente maior na rede (Tabela 3), possivelmente ocasionada pelas vias discutidas anteriormente da atuação do animal no sistema. Como exemplo da segunda via (inoculação) nesta intensidade de pastejo, é destacado a presença de bactérias do gênero *Ruminococcus*, conhecida por colonizar o rúmen de bovinos (LA REAU; SUEN, 2018). Por outro lado, a intensidade de pastejo leve (30 cm) apresentou um maior número de nós, indicando uma maior diversidade de microrganismos na comunidade, o que é reforçado pelos índices de diversidade alfa (Figura 5). O diâmetro da rede e os componentes conectados foram maiores, o que sugere que as interações entre microrganismos podem ser mais distantes e complexas, e que a estrutura da comunidade é mais fragmentada e diversificada. Além disso, a maior modularidade nesta intensidade de pastejo indica a presença de comunidades microbianas altamente especializadas e interdependentes, indicando sobre os diferentes nichos de atuação dessa comunidade microbiana. Como exemplo a presença de fungos do gênero *Epicoccum* que são conhecidas por atuar no controle biológico de fungos patogênicos e na promoção de crescimento vegetal (FÁVARO *et al.*, 2012; OGÓREK; PLASKOWSKA, 2011). Por outro lado, no tratamento sem pastejo há um desacoplamento da co-ocorrência de fungos e bactérias nos mesmos módulos, o que pode gerar implicações para as funções ecossistêmicas do solo, como observado pelo ISS (Figura 2).

É importante salientar que grandes áreas de pastagens em todo o mundo sofrem degradação devido ao pastoreio intensivo (Project MapBiomass, 2022; ZHOU *et al.*, 2014) e que a ausência de pastoreio também pode levar à perda de C no solo e redução do potencial produtivo da terra (GAO, 2007; HASSAN *et al.*, 2021; CONANT *et al.* 2001). Assim, nossos resultados trazem dados robustos quanto a qualidade do solo e a microbiota envolvida para inferir sobre práticas agrícolas simples que podem ter efeito elevado no desenvolvimento de atividades agrícola e pecuária de maneira responsável e sustentável.

6.5. CONCLUSÃO

A integração do componente animal e a regulação da prática do pastejo em alturas entre 20 e 40 cm beneficiam a saúde do solo e a produtividade da soja, sendo o intervalo de altura de 26 a 32 cm a faixa ótima para alcançar maior otimização do SIPA.

A comunidade microbiana no solo rizosférico da soja em SIPA foi majoritariamente composta por espécies dentro das famílias Bacillaceae, Xanthobactereaceae, Solibacteraceae e Burkholderiaceae (bactérias), Mortierellaceae, Nectriaceae, Cunninghamellaceae e Hypocreaceae (fungos). Poucas alterações nas comunidades microbianas foram observadas entre as alturas de pastejo. Todavia, foi observado que a presença do animal acarreta aumento da abundância de algumas famílias bacterianas na rizosfera da soja (10 e 30 cm), pelo contrário a abundância de algumas famílias fúngicas é aumentada no tratamento sem pastejo. Na intensidade de pastejo de 30 cm o componente animal desempenha papel complementar na construção do microbioma rizosférico, gerando padrões complexos de redes de interações e maior diversidade microbiana.

Esses achados têm implicações significativas para a promoção da agricultura responsável, destacando a importância de sistemas de produção que intensificam a atividade agrícola e pecuária de forma sustentável. Sugerimos que novas pesquisas em SIPA incluam atributos bioquímicos em índices de saúde do solo, tendo em vista a maior sensibilidade a alterações sutis no manejo.

REFERÊNCIAS

- ALVES, Lucas A. et al. Grazing, liming, and fertilization: Shifts on soil fertility and microbial community in a no-till sheep-soybean integrated system. *Applied Soil Ecology*, [s. l.], v. 188, n. December 2022, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2023.104893>
- ANDREWS, Susan S.; CARROLL, C. Ronald. Designing a Soil Quality Assessment Tool for Sustainable. *Ecological Society of America*, [s. l.], v. 11, n. 6, p. 1573–1585, 2001.
- ATTWOOD, Graeme T. et al. Applications of the soil, plant and rumen microbiomes in pastoral agriculture. *Frontiers in Nutrition*, [s. l.], v. 6, n. July, p. 1–17, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fnut.2019.00107>
- BANERJEE, Samiran; VAN DER HEIJDEN, Marcel G.A. Soil microbiomes and one health. *Nature Reviews Microbiology*, [s. l.], v. 21, n. 1, p. 6–20, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41579-022-00779-w>
- BANSAL, Sangeeta; CHAKRABORTY, Poulamee; KUMAR, Sandeep. Crop–livestock integration enhanced soil aggregate-associated carbon and nitrogen, and phospholipid fatty acid. *Scientific Reports*, [s. l.], v. 12, n. 1, p. 1–13, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-022-06560-6>
- BAO, Yuanyuan et al. Important ecophysiological roles of non-dominant Actinobacteria in plant residue decomposition, especially in less fertile soils. *Microbiome*, [s. l.], v. 9, n. 1, p. 1–17, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s40168-021-01032-x>
- BARTHAM, G.T. *Experimental Techniques: The HFRO Sward Stick*. Penicuik. Scotland: [s. n.], 1985.
- BATTISTI, R.; SENTELHAS, P. C.; BOOTE, K. J. Sensitivity and requirement of improvements of four soybean crop simulation models for climate change studies in Southern Brazil. *International Journal of Biometeorology*, [s. l.], v. 62, n. 5, p. 823–832, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00484-017-1483-1>
- BONETTI, João de Andrade et al. Agricultural practices to improve near-surface soil health and crop yield in subtropical soils. *Soil and Tillage Research*, [s. l.], v. 234, n. July, p. 1–10, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.still.2023.105835>
- BYRNES, Ryan C. et al. A Global Meta-Analysis of Grazing Impacts on Soil Health Indicators. *Journal of Environmental Quality*, [s. l.], v. 47, n. 4, p. 758–765, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.2134/jeq2017.08.0313>
- CAMERON, Ellen S et al. Enhancing diversity analysis by repeatedly rarefying next generation sequencing data describing microbial communities. *Scientific Reports*, [s. l.], p. 1–13, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-01636-1>
- CAPORASO, J Gregory et al. NIH Public Access. *Nature Methods*, [s. l.], v. 7, n. 5, p. 335–

336, 2010. Disponível em: <https://doi.org/https://doi.org/10.1038/nmeth.f.303>

CAPORASO, J Gregory et al. Ultra-high-throughput microbial community analysis on the Illumina HiSeq and MiSeq platforms. *The ISME Journal*, [s. l.], v. 6, p. 1621–1624, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/ismej.2012.8>

CARVALHO, Paulo César De Faccio et al. Animal production and soil characteristics from integrated crop-livestock systems : toward sustainable intensification. *Journal of animal science*, [s. l.], v. 96(8), n. June, p. 3513–3525, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/jas/sky085>

CHAPARRO, Jacqueline M; BADRI, Dayakar V; VIVANCO, Jorge M. Rhizosphere microbiome assemblage is affected by plant development. *The International Society for Microbial Ecology Journal*, [s. l.], v. 8, p. 790–803, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/ismej.2013.196>

COSTA, Marcela P. et al. A socio-eco-efficiency analysis of integrated and non-integrated crop-livestock-forestry systems in the Brazilian Cerrado based on LCA. *Journal of Cleaner Production*, [s. l.], v. 171, p. 1460–1471, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2017.10.063>

DASTOGEER, Khondoker M G et al. Plant microbiome—an account of the factors that shape community composition and diversity. *Current Plant Biology*, [s. l.], p. 100161, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cpb.2020.100161>

DELANDMETER, Mathieu et al. Integrated crop and livestock systems increase both climate change adaptation and mitigation capacities. *Science of The Total Environment*, v. 912, p. 169061, 2024.

DENG, Lei et al. Carbon in Chinese grasslands: meta-analysis and theory of grazing effects. *Carbon Research*, [s. l.], v. 2, n. 1, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s44246-023-00051-7>

DICK, Richard P. *Methods of soil enzymology*. [S. l.: s. n.], 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/9780891188582>

DORAN, John W; PARKIN, Timothy B. *Defining and assessing soil quality. Defining soil quality for a sustainable environment*. USA: SSSA Special Publication, [s. l.], v. 35, n. 35, p. 1–21, 1994.

DOS SANTOS, E. A. et al. Climate change in Brazilian agriculture: vulnerability and adaptation assessment. *International Journal of Environmental Science and Technology*, [s. l.], v. 20, n. 10, p. 10713–10730, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s13762-022-04730-7>

DOS SANTOS, João Vitor et al. The long-term effects of intensive grazing and silvopastoral systems on soil physicochemical properties, enzymatic activity, and microbial biomass. *Catena*, [s. l.], v. 219, n. August, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.catena.2022.106619>

EDGAR, Robert C. UPARSE : highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads. *Nature Methods*, [s. l.], v. 10, n. 10, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nmeth.2604>

FÁVARO, Léia Cecilia Lima; SEBASTIANES, Fernanda Luiza de Souza; ARAÚJO, Welington Luiz. *Epicoccum nigrum* P16, a sugarcane endophyte, produces antifungal compounds and induces root growth. *PLoS ONE*, [s. l.], v. 7, n. 6, p. 1–10, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0036826>

GRIMM, Alice Marlene et al. The combined effect of climate oscillations in producing extremes: the 2020 drought in southern Brazil. *Brazilian Journal of Water Resources*, [s. l.], v. 25, p. 1–12, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/2318-0331.252020200116>

HAO, Yuanyuan et al. *Nigrospora* Species Associated with Various Hosts from Shandong Peninsula, China. *Mycobiology*, [s. l.], v. 48, n. 3, p. 169–183, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/12298093.2020.1761747>

HASSAN, Nazim et al. Effects and mechanism of plant litter on grassland ecosystem: A review. *Acta Ecologica Sinica*, [s. l.], v. 41, n. 4, p. 341–345, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.CHNAES.2021.02.006>

HORWATH, William R. Carbon cycling and formation of soil organic matter. Third Edited. [S. l.]: Elsevier Inc., 2008. ISSN 1871756X. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-047514-1.50016-0>

JING, Jingying; CONG, Wen Feng; BEZEMER, T. Martijn. Legacies at work: plant–soil–microbiome interactions underpinning agricultural sustainability. *Trends in Plant Science*, [s. l.], v. 27, n. 8, p. 781–792, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2022.05.007>

KALAM, Sadaf et al. Recent Understanding of Soil Acidobacteria and Their Ecological Significance: A Critical Review. *Frontiers in Microbiology*, [s. l.], v. 11, n. October, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.580024>

KIELAK, Anna M. et al. The ecology of Acidobacteria: moving beyond genes and genomes. *Frontiers in microbiology*, v. 7, p. 171794, 2016.

KJELDAHL, J. New method for the determination of nitrogen. *Chem. News*, [s. l.], v. 48, n. 1240, p. 101–102, 1883.

KLINGMAN, DL; MILES, SR; MOTT, GO. The Cage Method for determining consumption and yield of pasture herbage. *Agronomy Journal*. 35, 739–746, 1943.

KUNRATH, Taise Robinson et al. Management targets for continuously stocked mixed oat×annual ryegrass pasture in a no-till integrated crop-livestock system. *European Journal of Agronomy*, [s. l.], v. 57, p. 71–76, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.eja.2013.09.013>

KUNRATH, Taise Robinson et al. Sward height determines pasture production and animal performance in a long-term soybean-beef cattle integrated system. *Agricultural Systems*, [s. l.], v. 177, n. September 2019, p. 102716, 2020. Disponível em:

<https://doi.org/10.1016/j.agsy.2019.102716>

KUZYAKOV, Yakov; RAZAVI, Bahar S. Rhizosphere size and shape: Temporal dynamics and spatial stationarity. *Soil Biology and Biochemistry*, [s. l.], v. 135, n. May, p. 343–360, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2019.05.011>

LA REAU, Alex J.; SUEN, Garret. The Ruminococci: key symbionts of the gut ecosystem. *Journal of Microbiology*, [s. l.], v. 56, n. 3, p. 199–208, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12275-018-8024-4>

MAMEHPOUR, N.; REZAPOUR, Salar; GHAEMIAN, N. Quantitative assessment of soil quality indices for urban croplands in a calcareous. *Geoderma*, [s. l.], v. 382, n. July 2020, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2020.114781>

MARTINS, Amanda Posselt et al. Soil moisture and soybean physiology affected by drought in an integrated crop-livestock system. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, [s. l.], v. 51, n. 8, p. 978–989, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2016000800010>

MEHLICH, A. Determination of P, Ca, Mg, K, Na and NH₄. North Carolina Soil Testing Division, [s. l.], p. 195, 1953.

MORAES, Anibal de et al. Integrated crop–livestock systems in the Brazilian subtropics. *European Journal of Agronomy*, [s. l.], 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.eja.2013.10.004>

MOTT, G. O.; LUCAS, Henry L. The design, conduct and interpretation of grazing trials on cultivated and improved pastures. *International grassland congress*, [s. l.], p. 1380–1395, 1952.

NILSSON, Rolf Henrik et al. The UNITE database for molecular identification of fungi: handling dark taxa and parallel taxonomic classifications. *Nucleic Acids Research*, [s. l.], v. 47, n. October 2018, p. 259–264, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/nar/gky1022>

NUNES, Pedro Arthur de Albuquerque et al. Livestock integration into soybean systems improves long-term system stability and profits without compromising crop yields. *Scientific Reports*, [s. l.], v. 11, n. 1, p. 1–14, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-81270-z>

OGÓREK, R.; PLASKOWSKA, E. *Epicoccum nigrum* for biocontrol agents in vitro of plant fungal pathogens. *Communications in agricultural and applied biological sciences*, [s. l.], v. 76, n. 4, p. 691–697, 2011.

OKSANEN, J. et al. *Vegan: Community Ecology Package*. [S. l.: s. n.], 2022.

PETERSON, Caitlin A. et al. Winter grazing does not affect soybean yield despite lower soil water content in a subtropical crop-livestock system. *Agronomy for Sustainable Development*, v. 39, p. 1-10, 2019.

PYLRO, Victor S et al. BMPOS : a Flexible and User-Friendly Tool Sets for Microbiome Studies. *Microbial Ecology*, [s. l.], p. 443–447, 2016. Disponível em:

<https://doi.org/10.1007/s00248-016-0785-x>

PYLRO, Victor S et al. Data analysis for 16S microbial profiling from different benchtop sequencing platforms. *Journal of Microbiological Methods*, [s. l.], v. 107, p. 30–37, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2014.08.018>

REZAPOUR, Salar; ALAMDARI, Parisa; KALAVROUZOTIS, Ioannis K. Response of soil health index to untreated wastewater irrigation in selected farms under different vegetable types. *Agricultural Water Management*, [s. l.], v. 290, n. October, p. 108592, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2023.108592>

SANTOS, Humberto gonçalves et al. *Sistema brasileiro de classificação de solos*. 5. ed. Brasília - DF: [s. n.], 2018.

SCHLATTER, Daniel C et al. Soil Biology & Biochemistry Biosolids and conservation tillage : Impacts on soil fungal communities in dryland wheat-fallow cropping systems. *Soil Biology and Biochemistry*, [s. l.], v. 115, p. 556–567, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2017.09.021>

SHEN, Ren Fang; TENG, Ying. The frontier of soil science: Soil health. *Pedosphere*, [s. l.], v. 33, n. 1, p. 6–7, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.pedsph.2022.06.007>

SILVA, Francine D. et al. Spatiotemporal distribution of cattle dung patches in a subtropical soybean-beef system under different grazing intensities in winter. *Agronomy*, [s. l.], v. 10, n. 9, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/agronomy10091423>

SIMÕES, Vicente José Laamon Pinto et al. Structural soil quality and system fertilization efficiency in integrated crop-livestock system. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, [s. l.], v. 349, n. December 2022, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.agee.2023.108453>

SMITH, Dylan P; PEAY, Kabir G. Sequence Depth , Not PCR Replication , Improves Ecological Inference from Next Generation DNA Sequencing. *PLOS One*, [s. l.], v. 9, n. 2, 2014. Disponível em: <https://doi.org/https://doi.org/10.1371/journal.pone.0090234>

SOIL SURVEY STAFF. *Keys to Soil Taxonomy*. Twelfth Eded. [S. l.]: United States Department of Agriculture., 2014. ISSN 2224235X.

SONG, Kailun et al. Effects of rumen microorganisms on the decomposition of recycled straw residue. *Journal of Zhejiang University: Science B*, [s. l.], v. 24, n. 4, p. 336–344, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1631/jzus.B2200504>

SOUZA FILHO, William de et al. Mitigation of enteric methane emissions through pasture management in integrated crop-livestock systems: Trade-offs between animal performance and environmental impacts. *Journal of Cleaner Production*, [s. l.], v. 213, p. 968–975, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.12.245>

STUART, Emiko K et al. Non-mycorrhizal root-associated fungi increase soil C stocks and stability via diverse mechanisms. *European Geosciences Union*, [s. l.], v. 21, p. 1037–1059, 2024.

SUGIYAMA, Akifumi. The soybean rhizosphere: Metabolites, microbes, and beyond—A review. *Journal of Advanced Research*, [s. l.], v. 19, p. 67–73, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jare.2019.03.005>

TAVARES, DAVI SANTOS and Franco, Aline de Jesus and Silva, Jessyca Adriana Gomes Florênc and Reis, Tamires Rodrigues Dos and Soares, Maria Clara and Santos, Layane Aparecida Mendes dos and Pires, Gabriela Castro and Souza, Sandra Maria Monteiro de Arau and Oliveira, Luiz Guilherme Santos de and Silva, ALINE Oliveira and Pacheco, Leandro Pereira and Carneiro, Marco Aurélio Carbone, System Fertilization in Integrated Crop-Livestock Management Favors Microbial Processes, Soil Quality and Production Profitability. Available at SSRN: <https://ssrn.com/abstract=4755132> or <http://dx.doi.org/10.2139/ssrn.4755132>

TEIXEIRA, Paulo César et al. *Manual De Métodos de Análise de Solo*. 3. ed. Brasília - DF: [s. n.], 2017. E-book.

VANCE, E D; BROOKES, P C; JENKINSON, D S. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. *Soil Biology and Biochemistry*, [s. l.], v. 19, n. 6, p. 703–707, 1987. Disponível em: papers://c153aa6a-674a-4d9c-be67-ab5f6be3d6cb/Paper/p4

VANCOV, T. et al. Potential use of feedlot cattle manure for bioethanol production. *Bioresource Technology*, v. 183, p. 120-128, 2015.

WALKLEY, A.; BLACK, I.A. An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter, and proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Science*, [s. l.], v. 37, p. 29–38, 1934.

WEN, Tao et al. Root exudate chemistry affects soil carbon mobilization via microbial community reassembly. *Fundamental Research*, [s. l.], v. 2, n. 5, p. 697–707, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fmre.2021.12.016>

WESP, Cristiane de Lima et al. Steers production in integrated crop-livestock systems: Pasture management under different sward heights. *Revista Ciencia Agronomica*, [s. l.], v. 47, n. 1, p. 187–194, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.5935/1806-6690.20160022>

WIJAYAWARDENE, Nalin N. et al. Camarosporium-like species are polyphyletic in pleosporales; Introducing paracamarosporium and pseudocamarosporium gen. nov. in Montagnulaceae. *Cryptogamie, Mycologie*, [s. l.], v. 35, n. 2, p. 177–198, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.7872/crym.v35.iss2.2014.177>

WOLIŃSKA, Agnieszka et al. Easily degradable carbon - An indicator of microbial hotspots and soil degradation. *International Agrophysics*, [s. l.], v. 32, n. 1, p. 123–131, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1515/intag-2016-0098>

YANG, Tony; SIDDIQUE, Kadambot H.M.; LIU, Kui. Cropping systems in agriculture and their impact on soil health-A review. *Global Ecology and Conservation*, [s. l.], v. 23, p. e01118, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.gecco.2020.e01118>

ZAGATO, Luana Quirino Souza Dayoub et al. Decomposition of straw resulting from

different strategies of recovery of degraded pastures using an integrated crop-livestock system. *Semina: Ciencias Agrarias*, [s. l.], v. 39, n. 4, p. 1397–1406, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2018v39n4p1397>

ZHAO, Wei; ZHAO, Chang Lin. The Phylogenetic Relationship Revealed Three New Wood-Inhabiting Fungal Species From Genus *Trechispora*. *Frontiers in Microbiology*, [s. l.], v. 12, n. March, p. 1–11, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.650195>

ZHENG, Huan Di; ZHUANG, Wen Ying. Additions to the Knowledge of the Genus *Pezicula* (Dermateaceae, Helotiales, Ascomycota) in China. *Biology*, [s. l.], v. 11, n. 10, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/biology11101386>

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A gestão eficaz da microbiota do solo desempenha um papel fundamental na promoção da sustentabilidade agrícola em sistemas integrados de produção agropecuária. Esta pesquisa enfoca o potencial das práticas simples em sistemas conservacionistas para otimizar não apenas a qualidade química, mas principalmente a qualidade biológica do solo e seu funcionamento.

A adubação de sistema se torna uma prática reconhecidamente sustentável, que impulsiona o crescimento da comunidade microbiana do solo, sua atuação na reciclagem dos nutrientes, manutenção da fertilidade, sequestro de carbono e promoção da produtividade agrícola. Este estudo demonstra um potencial para um grande retorno econômico a partir da intensificação das atividades agropecuárias de forma responsável e estratégica.

Os achados desta tese também indicam que o pastejo por bovinos na *Lolium multiflorum* acarreta mudanças importantes na composição microbiana da rizosfera da soja. A presença do animal acarreta aumento da abundância de algumas famílias bacterianas na rizosfera da soja (10 e 30 cm), pelo contrário a abundância de algumas famílias fúngicas são aumentadas no tratamento sem pastejo. O componente animal promove padrões mais complexos nas redes de coocorrência das comunidades fúngicas e bacterianas na rizosfera da soja, o que tem implicância nas funções ecossistêmicas do solo. A altura de pastejo de 30 cm promove maior diversidade microbiana na rizosfera. Além de que as intensidades de pastejo entre 20 e 40 cm aumentam o índice de saúde do solo, sendo a faixa entre 26 e 32 cm ideal também para aumento da produtividade da soja.

Novas pesquisas podem investigar se a simbiose de bactérias diazotróficas associativas com a rizosfera do componente pastagem (*Urochloa brizanta*) pode ser o fator de incremento de nitrogênio no solo em estratégias de adubação onde não há o fornecimento deste nutriente. Este viés de pesquisa pode inclusive identificar as estirpes bacterianas e seu potencial biotecnológico, visando a recuperação de áreas menos produtivas. Assim como, pesquisar quais são os microrganismos chave selecionados pelas estratégias de manejo mais assertivas e seu papel no microbioma rizosférico da soja. Pesquisas sobre o aumento da diversidade vegetal e a capacidade da continuidade da manutenção do ecossistema sem a adição de nitrogênio por insumos químicos, também são encorajadas.

Minha pesquisa se alinha com os seguintes serviços ecossistêmicos:

- a) Regulação da qualidade do ar e do clima: sequestro de carbono pelo solo.
- b) Produção de alimentos: aumento da produtividade da soja.
- c) Ciclagem de nutrientes: reciclagem de nutrientes pelo solo.
- d) Saúde do solo: aumento da qualidade biológica do solo.

Além disso, possui foco para os seguintes Objetivos de Desenvolvimento Sustentável da FAO:

Objetivo 1: Acabar com a fome e garantir o acesso seguro e nutritivo a alimentos para todos, promovendo a agricultura familiar, sustentável e resiliente.

Objetivo 2: Erradicar a pobreza em todas as suas formas e em todos os níveis.

Objetivo 12: Assegurar padrões de consumo e produção sustentáveis.

Objetivo 13: Adotar medidas urgentes para combater as mudanças climáticas e seus efeitos.

Ao compreender os impactos da microbiota do solo na agricultura, principalmente nos sistemas integrados, podemos desenvolver práticas mais sustentáveis que garantam a segurança alimentar e a proteção do meio ambiente para as futuras gerações."

MATERIAL SUPPLEMENTAR

ARTIGO 1

Table S1. ANOVA summary of all analyzed variables.

FV	SS	F	P	FV	SS	F	P
Total Soil Nitrogen				Stock Carbon			
M	0.19	4.2690	0.0727 ^{ns}	M	2.27	0.2582	0.6251 ^{ns}
N	0.03	0.5795	0.4684 ^{ns}	N	1.54	0.1439	0.7143 ^{ns}
M*N	0.31	6.8115	0.0311*	M*N	91.91	8.5675	0.0191*
Soil Phosphorus content				qMIC			
M	336.81	9.1232	0.0165*	M	0.32	1.0659	0.3321 ^{ns}
N	61.67	1.6706	0.2323 ^{ns}	N	1.77	5.8307	0.0422*
M*N	137.53	3.7253	0.0897 ^{ns}	M*N	0.72	2.3863	0.1610 ^{ns}
Soil Potassium content				qCO₂			
M	859.11	23.6963	0.0012**	M	0.33	0.0976	0.7628 ^{ns}
N	6.68	0.1843	0.6790 ^{ns}	N	75.00	21.9512	0.0016**
M*N	1939.67	53.5006	<0.001**	M*N	40.33	11.8049	0.0089**
Available calcium				BG			
M	0.72	1.5172	0.2530 ^{ns}	M	5342.73	0.0548	0.8208 ^{ns}
N	0.02	0.0404	0.8456 ^{ns}	N	179732.81	1.8434	0.2116 ^{ns}
M*N	0.67	1.4157	0.2682 ^{ns}	M*N	71014.41	0.7284	0.4182 ^{ns}
Available magnesium				ARS			
M	0.27	1.3186	0.2840 ^{ns}	M	1145262.40	7.1113	0.0285*
N	0.09	0.4573	0.5180 ^{ns}	N	51223.20	0.3181	0.5882 ^{ns}
M*N	0.19	0.9157	0.3666 ^{ns}	M*N	699228.50	4.3417	0.0707 ^{ns}
TOC				AcP			
M	1.41	0.2582	0.6251 ^{ns}	M	831520.85	20.7813	0.0019**
N	0.79	0.1439	0.7143 ^{ns}	N	138100.23	3.4514	0.1003 ^{ns}
M*N	46.89	8.5675	0.0191*	M*N	3549.48	0.0887	0.7734 ^{ns}
MBC				FDA			
M	7408.04	0.5467	0.4808 ^{ns}	M	1189.11	7.9904	0.0223*
N	62878.91	4.6406	0.0634 ^{ns}	N	12.48	0.0839	0.7794 ^{ns}
M*N	72736.97	5.3682	0.0492*	M*N	0.96	0.0064	0.9380 ^{ns}
SBR				GP			
M	0.12	7.2586	0.0273*	M	53067.00	2.4072	0.1594 ^{ns}
N	0.01	0.7153	0.4223 ^{ns}	N	279075.00	12.6595	0.0074**
M*N	0.09	5.1866	0.0523 ^{ns}	M*N	22016.33	0.9987	0.3469 ^{ns}
PNPCc				SR			
M	0.57	0.0548	0.8208 ^{ns}	M	0.27	6.0767	0.0390*
N	19.26	1.8434	0.2116 ^{ns}	N	0.16	3.7728	0.0880 ^{ns}
M*N	7.61	0.7284	0.4182 ^{ns}	M*N	0.01	0.0930	0.7681 ^{ns}
PNPFa				PA			
M	875.95	7.1113	0.0285*	M	148173.24	8.0072	0.0222*
N	39.18	0.3181	0.5882 ^{ns}	N	190570.24	10.2984	0.0124*
M*N	534.80	4.3417	0.0707 ^{ns}	M*N	1339.46	0.0724	0.7947 ^{ns}
PNPFf				AWG			
M	593.47	20.7813	0.0019**	M	65.33	10.8889	0.0109*
N	98.56	3.4514	0.1003 ^{ns}	N	21.33	3.5556	0.0961 ^{ns}
M*N	2.53	0.0887	0.7734 ^{ns}	M*N	8.33	1.3889	0.2725 ^{ns}

M = Fertilization management (Conventional or System); N = Nitrogen fertilization in the pasture (with or without); TOC – Total organic carbon; MBC – Microbial biomass carbon; SBR – Soil basal respiration; qCO₂ – Metabolic quotient; qMIC – Microbial quotient; BG – β -glucosidase; ARS – Arylsulfatase; AcP – Acid phosphatase; FDA – Hydrolysis of fluorescein diacetate; PNPCc – Carbon mineralization potential; PNPFa – Sulfur mineralization potential; PNPFf – phosphorus mineralization potential; GP – Grain productivity; SR – Animal stoking rate; PA – Pasture accumulation; AWG – Animal weight gain.

Table S2. Experimental history, planting practices, harvesting, entry and exit of animals and fertilization.

2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018					
Soybean/ Corn	Soybean/ Corn	Soybean/ Corn	Soybean/ Corn	Soybean/ Livestock	Soybean/ Livestock	Soybean/ Livestock	Soybean/ Corn	Soybean/ Corn					
Start of the experiment													
YEAR	Soybean Harvest	Brachiaria (BRS Piatã)		Cattle (Nelore)				Soybean (Brasmax FOCO 75I77 IPRO)			Fertilization (kg ha ⁻¹)		
		Planting	Seeding rate kg ha ⁻¹	Entrance	Initial live weight (kg)	Exit	grazing days	Planting	Seeding rate kg ha ⁻¹	Inoculation (ml 50 kg of seeds ⁻¹)	N	P	K
2019	Febuary	March, 13	8.8	May	246	August, 23	132	October, 30	255000	<i>B. japonicum</i> (200 ml)	100	35	35
2020	Febuary, 21	March, 27	8.8	April	260	July, 17	118	November, 10	255000	<i>B. japonicum</i> (200 ml)	100	66	66
2021	March, 06	March	8.8	April, 24	223	July, 10	77	October, 17	255000	<i>B. japonicum</i> (300 ml) <i>Azospirillum</i> sp. (150 ml)	100	80	80
2022	Febuary, 10	SOIL COLLECTION											

Table S3. Costs (US\$ ha⁻¹) of off-season pasture in Integrated Agricultural Production Systems in the 2021/2022 season, for different ICLS-NT fertilization strategies. Necklace quote for average from July 2021 to February 2022 (5.35 R\$ = 1.00 US\$).

COSTS	CF-N	CF+N	SF-N	SF+N
	US\$ ha ⁻¹			
PASTURE COSTING EXPENSES	96.57	318.21	96.57	318.21
A- VARIABLE COSTS	114.69	336.33	114.69	336.33
Brachiaria Grass Seeds	70.80	70.80	70.80	70.80
Machine Operation	13.45	13.45	13.45	13.45
Labor	10.64	10.64	10.64	10.64
Urea	0.00	221.64	0.00	221.64
Wire	1.68	1.68	1.68	1.68
II - OTHER VARIABLE COSTS	18.12	18.12	18.12	18.12
General costs	4.87	4.87	4.87	4.87
Utility fuel expenses	1.65	1.65	1.65	1.65
Maintenance of machines and equipment	11.60	11.60	11.60	11.60
B - FIXED COST	18.67	18.67	18.67	18.67
IV - DEPRECIATION	17.34	17.34	17.34	17.34
V - OTHER FIXED COSTS	1.33	1.33	1.33	1.33
C - OPERATING COST (A + B)	133.36	355.00	133.36	355.00
VI - OPPORTUNITY COST	73.00	73.00	73.00	73.00
D - TOTAL COST (C + VI)	206.36	428.00	206.36	428.00

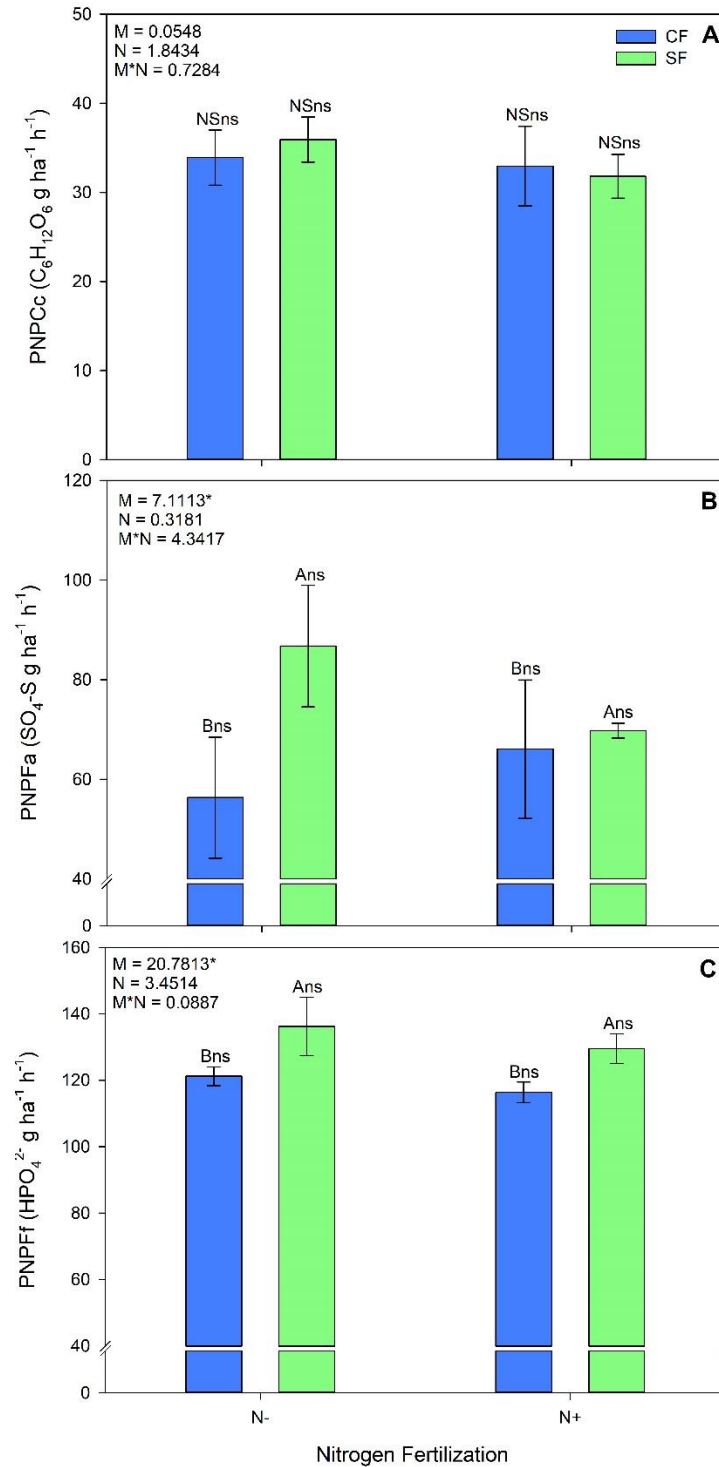


Figure S1. Potential for carbon, sulfur, and phosphorus mineralization through the activity of β -glucosidase – PNPCC (A), Arylsulfatase – PNPFa (B), and Acid phosphatase – PNPFf (C) in the soil of the integrated crop-livestock system under different fertilization strategies. The capital letters demonstrate differences between fertilization management (Conventional and System) within each nitrogen condition, while lowercase letters show important differences for nitrogen fertilization (N- or N+) within each type of management, using the Student's T-test ($P < 0.05$). Bars represent the mean $\pm$ SD of three replicates. * and ** denote significance at 5% and 1%, respectively, while NS/ns indicate no significance. Mineralization potential was calculated by equation $\text{PNP} = ((\mu\text{g PNP})/(\text{g soil} \cdot \text{unit time})) \cdot ((\mu\text{g nutrient}/\mu\text{mol})/(139,11 \mu\text{PNP}/\mu\text{mol}))$ according (DICK; BREAKWELL; TURCO, 1996)

ARTIGO 2

Tabela S1. Histórico experimental, práticas de plantio, colheita, entrada e saída de animais e adubação (kg ha⁻¹).

ANO	Taxa de semeadura		Semeadura do pasto	Entrada de animais	Saída de animais	Semeadura da soja	Cv. soja	Colheita	Adubação no pasto			Adubação na soja		
	Aveia preta	Azevém ¹							N	P	K	N	P	K
2001	100	NR	18/05	24/07	05/11	10/12	Iguaçu	06/05	45	-	-	-	120	90
2002	100	NR	13/05	16/07	13/11	17/12	Iguaçu	01/05	60	-	-	-	60	60
2003	100	NR+25	19/05	21/07	07/11	12/12	Iguaçu	07/05	75	-	-	15	60	90
2004	100	NR+25	10/05	12/07	14/11	05/12	Nidera RR	30/04	45	-	-	-	60	90
2005	100	NR	04/05	05/07	13/11	02/12	Nidera RR	05/05	45	-	-	-	60	90
2006	100	NR	11/05	29/06	08/11	15/12	Nidera RR	12/05	45	-	-	-	60	90
2007	-	-	12/05	14/07	09/11	18/12	Nidera RR	07/05	45	-	-	-	60	70
2008	100	NR	17/05	17/07	15/11	26/12	Nidera RR	24/04	45	-	-	-	60	70
2009	100	NR	17/05	17/07	30/10	17/12	Nidera RR	17/04	90	-	-	-	60	70
2010	45	NR	30/04	06/07	02/11	27/11	Nidera RR	26/03	90	-	-	-	60	70
2011	50	NR	19/04	10/06	07/11	16/11	Nidera RR	16/04	90	-	-	-	60	70
2012	-	-	24/04	03/07	01/11	21/11	Nidera RR	09/04	150	45	60	-	-	-
2013	50	NR+30	23/04	24/06	06/11	14/11	Nidera RR	05/04	140	60	60	-	-	-
2014	60	NR+30	17/04	02/06	01/11	28/11	Nidera RR	11/04	140	60	60	-	-	-
2015	35	NR+25	25/04	09/06	30/10	24/11	Nidera RR	12/04	90	45	60	-	-	-
2016	60	NR+40	24/05	27/07	03/11	13/11	Nidera RR	13/04	112,5	60	90	-	-	-
2017	-	NR+25	28/04	28/06	19/10	10/11	Nidera RR	26/03	80	-	-	-	110	100
2018	-	NR+25	21/04	20/07	06/11	20/11	VTOP RR	06/04	80	-	-	-	85	85
2019	-	NR+25	30/04	11/07	08/11	02/11	VTOP RR	25/03	48	-	-	-	105	100
2020	-	NR+25	29/04	27/07	06/11	02/11	VTOP RR		48	-	-	-	90	90
2021	-	NR+25	17/05	19/07	02/11	15/11	VTOP RR	24/04	48	-	-	-	90	90

*Calagem aplicada em área total em novembro de 2001 (4,5 Mg ha⁻¹), e aplicado em sub-parcelas em maio de 2010 (3,6 Mg ha⁻¹). ¹ NR = Ressemeadura natural.

Tabela S2. Resumo da ANOVA de todas as variáveis analisadas.

FV	DF	SS	F	P	FV	DF	SS	F	P
<i>pH</i>					<i>Enxofre – S</i>				
Trat	4	842,00	3,74	0,0161*	Trat	4	56,73	2,55	0,0638 ^{ns}
Res.	25	1405,50			Res.	25	138,79		
C. total	29	2247,50			C. total	29	195,52		

<i>Nitrogênio - N</i>				
Trat	4	0,61	2,87	0,0436*
Res.	25	1,33		
C. total	29	1,99		
<i>Fósforo - P</i>				
Trat	4	620,20	6,16	0,0014**
Res.	25	628,66		
C. total	29	1248,86		
<i>Potássio - K</i>				
Trat	4	16170,51	3,01	0,0371*
Res.	25	33565,71		
C. total	29	49736,22		
<i>Sódio - Na</i>				
Trat	4	717,33	2,93	0,0408*
Res.	25	1530,17		
C. total	29	2247,50		
<i>Zinco - Zn</i>				
Trat	4	450,67	1,56	0,2138 ^{ns}
Res.	25	1796,83		
C. total	29	2247,50		
<i>Ferro - Fe</i>				
Trat	4	404,15	2,47	0,0703 ^{ns}
Res.	25	1020,89		
C. total	29	1425,05		
<i>Manganésio - Mn</i>				
Trat	4	1505,10	1,90	0,1414 ^{ns}
Res.	25	4945,60		
C. total	29	6450,70		
<i>Cobre - Cu</i>				
Trat	4	441,67	1,53	0,2243 ^{ns}
Res.	25	1805,83		
C. total	29	2247,50		
<i>Boro - B</i>				
Trat	4	0,02	3,43	0,0230*
Res.	25	0,03		
C. total	29	0,05		
<i>Cálcio - Ca</i>				
Trat	4	4,71	2,29	0,0874 ^{ns}
Res.	25	12,84		
C. total	29	17,55		
<i>Magnésio - Mg</i>				
Trat	4	1,17	2,80	0,0474*
Res.	25	2,60		
C. total	29	3,77		
<i>Acidez efetiva - Al</i>				
Trat	4	1127,00	6,28	0,0012**

<i>Capacidade de troca de cátions – t</i>				
Trat	4	363,00	12,039	0,3339 ^{ns}
Res.	25	1884,50		
C. total	29	2247,50		
<i>Capacidade de troca de cátions pH7 - T</i>				
Trat	4	6,84	1,72	0,1768 ^{ns}
Res.	25	24,83		
C. total	29	31,67		
<i>Saturação por bases – V%</i>				
Trat	4	604,47	3,23	0,0289*
Res.	25	1170,37		
C. total	29	1774,84		
<i>Saturação por alumínio – m%</i>				
Trat	4	57,86	1,63	0,1973 ^{ns}
Res.	25	221,50		
C. total	29	279,36		
<i>Fósforo remanescente - P_{rem}</i>				
Trat	4	143,33	0,42	0,7886 ^{ns}
Res.	25	2104,17		
C. total	29	2247,50		
<i>Saturação por sódio – SAR</i>				
Trat	4	7.15	2.92	0.0414*
Res.	25	15.32		
C. total	29	22.47		
<i>Carbono orgânico total – TOC</i>				
Trat	4	1,62	3,15	0,0315*
Res.	25	3,22		
C. total	29	4,84		
<i>Soma de bases – SB</i>				
Trat	4	9,21	1,74	0,1720 ^{ns}
Res.	25	33,00		
C. total	29	42,22		
<i>Carbono da biomassa microbiana - MBC</i>				
Trat	4	242944,73	3,52	0,0207*
Res.	25	431344,75		
C. total	29	674289,48		
<i>Nitrogênio da biomassa microbiana - MBN</i>				
Trat	4	1872,33	31,19	<0,0001**
Res.	25	375,17		
C. total	29	2247,50		
<i>Respiração basal do solo – SBR</i>				
Trat	4	0,09	4,84	0,0050*
Res.	25	0,12		
C. total	29	0,21		
<i>Quociente metabólico – qCO₂</i>				
Trat	4	1427,33	10,88	<0,0001**

Res.	25	1120,50		
C. total	29	2247,50		
Acidez potencial - H + Al				
Trat	4	16,47	2,96	0,0392*
Res.	25	34,74		
C. total	29	51,21		
Argila				
Trat	4	656,00	2,57	0,0622 ^{ns}
Res.	25	1591,50		
C. total	29	2247,50		
Silte				
Trat	4	479,00	1,69	0,1831 ^{ns}
Res.	25	1768,50		
C. total	29	2247,50		
Areia				
Trat	4	477,33	1,68	0,1848 ^{ns}
Res.	25	1770,17		
C. total	29	2247,50		
Densidade do solo - BD				
Trat	4	0.04	0.75	0.5766 ^{ns}
Res.	11	0.13		
C. total	15	0.17		
Densidade da partícula - PD				
Trat	4	0.18	1.75	0.2079 ^{ns}
Res.	11	0.28		
C. total	15	0.45		
Porosidade - POR				
Trat	4	92.93	0.78	0.5601 ^{ns}
Res.	11	326.91		
C. total	15	419.84		
β-1,4-glicosidase - BG				
Trat	4	998597.5	32.1	<0.0001**
Res.	25	194412.1		
C. total	29	1193009.6		
Arilsulfatase - ARS				
Trat	4	96818.47	47.92	<0.0001**
Res.	25	12625.69		
C. total	29	109444.15		
Fosfatase ácida - AcP				
Trat	4	13416.39	25,28	<0.0001**
Res.	25	3316.76		
C. total	29	16733,16		
Hidrolise do diacetate de fluoresceína - FDA				
Trat	4	1374,20	12,57	<0,0001**
Res.	25	655,80		
C. total	29	2030,00		

Res.	25	820,17		
C. total	29	2247,50		
Quociente microbiano – qMIC				
Trat	4	3.43	3.42	0.0231*
Res.	25	6.26		
C. total	29	9.68		
PNPCc				
Trat	4	6388,38	33,89	<0,0001**
Res.	25	1178,04		
C. total	29	7566,42		
PNPFf				
Trat	4	931,48	25,71	<0,0001**
Res.	25	226,44		
C. total	29	1157,92		
PNPFa				
Trat	4	8081,71	57,32	<0,0001**
Res.	25	881,20		
C. total	29	8962,92		
Ciclagem de nutrientes – NC				
Trat	4	0.49	26.63	<0.0001**
Res.	25	0.11		
C. total	29	0.61		
Sequestro de carbono – CS				
Trat	4	0.57	25.87	<0,0001**
Res.	25	0.14		
C. total	29	0.71		
Nutrição vegetal – PN				
Trat	4	0.07	1.56	0.2144 ^{ns}
Res.	25	0.3		
C. total	29	0.37		
Suporte físico – PS				
Trat	4	0.09	1.7703	0.1664 ^{ns}
Res.	25	0.32		
C. total	29	0.41		
Índice de saúde do solo – ISS				
Trat	4	1.35	12.55	<0.0001**
Res.	25	0.67		
C. total	29	2.02		
Produção de grãos – Yield				
Trat	4	218,00	8,79	0,0026**
Res.	10	62,00		
C. total	14	280,00		
Produção de forragem total – THP				
Trat	4	36119076	2,86	0,0811 ^{ns}
Res.	10	31588315		
C. total	14	67707391		

<i>GMean</i>					<i>Biomassa residual de forragem - RB</i>				
Trat	4	1939,33	39,33	<0,0001**	Trat	4	40714371	53,04	<0,0001**
Res.	25	308,17			Res.	10	1918872		
C. total	29	2247,50			C. total	14	42633243		

Tabela S3. Média geral das alturas do pasto medidas em seis avaliações com 100 pontos para cada unidade experimental.

		Altura do pasto (cm)				
		10 cm	20 cm	30 cm	40 cm	NG
Média de 100 pontos		26.22	28.78	36.76	37.83	42.50
		18.57	29.10	32.20	40.21	35.10
		16.06	23.62	27.89	29.95	45.16
		15.47	22.54	28.11	35.07	39.08
		6.77	22.88	28.67	41.69	49.30
		8.77	24.49	24.99	32.19	51.48
		11.62	24.52	29.86	33.26	48.14
		6.62	21.54	30.96	44.11	42.42
		8.12	21.23	25.68	36.55	34.48
		7.65	24.82	31.57	37.75	42.82
		7.36	26.49	35.87	35.50	24.52
		6.55	26.34	31.66	38.75	27.70
		10.57	28.06	28.56	38.09	38.80
		9.41	30.22	31.06	31.85	42.12
		9.96	28.57	31.95	36.68	50.39
		17.09	16.87	22.68	21.23	45.28
		9.20	21.83	24.12	27.09	38.65
		8.56	21.80	18.27	26.66	26.11
Média		11,37	24,65	28,94	34,69	40,23
Desvio padrão		5,30	3,50	4,58	5,77	8,40

Tabela S4. Variáveis químicas, físicas e bioquímicas do solo.

TRATAMENTO		10	20	30	40	NG					
pH (H ₂ O)		5.19	a	5.04	ab	4.85	ab	4.93	ab	4.83	b
N	(mg kg ⁻¹)	3.33	ab	3.33	ab	3.55	a	3.43	ab	3.12	b
P	(mg dm ⁻³)	28.31	a	22.64	a	19.51	ab	15.03	b	17.84	b
K		175.59	ab	169.27	ab	163.61	b	185.92	ab	228.61	a
Na		7.17	ab	7.50	a	6.50	ab	5.50	b	6.67	ab
S		11.87	ns	12.85	ns	11.94	ns	9.02	ns	10.21	ns
Zn		1.63	ns	1.72	ns	1.67	ns	1.43	ns	2.28	ns
Fe		25.30	ns	27.52	ns	30.20	ns	35.07	ns	33.75	ns
Mn		60.63	ns	66.50	ns	80.18	ns	68.15	ns	76.68	ns
Cu		3.70	ns	3.91	ns	4.74	ns	3.80	ns	4.87	ns
B		0.21	a	0.19	ab	0.14	b	0.15	ab	0.16	ab
Ca		4.96	ns	4.52	ns	4.30	ns	4.42	ns	3.73	ns
Mg	(cmol _c dm ⁻³)	2.62	a	2.28	ab	2.27	ab	2.39	ab	2.01	b
Al		0.29	b	0.42	b	0.43	ab	0.37	b	0.65	a
H+Al		6.67	ab	6.33	b	7.45	ab	7.32	ab	8.48	a
SB		8.03	ns	7.43	ns	6.99	ns	7.29	ns	6.34	ns

t		8.36	ns	7.85	ns	7.42	ns	7.66	ns	6.99	ns
T		14.69	ns	13.77	ns	14.44	ns	14.61	ns	15.25	ns
V	(%)	54.53	a	53.81	a	48.48	ab	49.88	ab	42.02	b
m		4.27	ns	5.60	ns	6.10	ns	4.99	ns	8.36	ns
P-REM	(mg L ⁻¹)	29.88	ns	29.15	ns	27.80	ns	30.37	ns	29.20	ns
SAR	(%)	3.88	ab	4.50	ab	4.03	ab	3.30	b	4.69	a
Clay		51.50	ns	54.33	ns	55.00	ns	50.67	ns	53.58	ns
Silt	(dag kg ⁻¹)	25.83	ns	23.50	ns	26.17	ns	21.83	ns	24.33	ns
Sand		22.67	ns	22.17	ns	18.83	ns	27.50	ns	23.58	ns
BD	(g cm ⁻³)	1.18	ns	1.11	ns	1.25	ns	1.13	ns	1.19	ns
PD		2.65	ns	2.64	ns	2.55	ns	2.45	ns	2.77	ns
POR	(%)	55.69	ns	58.12	ns	50.89	ns	54.19	ns	56.60	ns
TOC	(g kg ⁻¹)	27.79	ab	30.21	a	29.21	ab	27.55	ab	26.34	b
MBN	(mg kg ⁻¹)	26.43	a	23.88	a	15.08	b	14.92	b	10.03	c
MBC	(μg g ⁻¹)	595.36	a	422.54	ab	466.31	ab	508.42	ab	324.21	b
SBR	(mg CO ₂ g ⁻¹ h ⁻¹)	0.18	ab	0.16	ab	0.08	b	0.21	a	0.24	a
qCO₂	(g C-CO ₂ g ⁻¹ MBC h ⁻¹)	0.32	bc	0.43	ab	0.16	c	0.44	ab	0.84	a
qMIC	(%)	2.19	a	1.40	ab	1.59	ab	1.86	ab	1.23	b
BG		899.65	b	1323.83	a	1222.59	a	1215.39	a	1031.82	b
AcP	μg ρNP g ⁻¹ soil h ⁻¹	250.29	c	281.19	b	286.14	b	316.96	a	284.99	b
ARS		212.55	d	279.51	c	358.32	a	366.03	a	318.47	b
FDA	μg fluorescein g ⁻¹ soil d ⁻¹	342.46	a	356.92	a	293.10	b	306.23	b	291.16	b
GMean		362.44	c	469.74	b	500.20	a	519.94	a	453.90	b
PNPCC	(C ₆ H ₁₂ O ₆ g ⁻¹ ha ⁻¹ h ⁻¹)	91.57	d	126.76	ab	131.83	a	118.47	b	105.92	c
PNPFF	(HPO ₄ ²⁻ g ⁻¹ ha ⁻¹ h ⁻¹)	65.75	b	69.49	b	79.63	a	79.74	a	75.50	a
PNPFA	(SO ₄ -S g ⁻¹ ha ⁻¹ h ⁻¹)	57.80	d	71.50	c	103.23	a	95.32	ab	87.34	b

NG – Sem pastejo.; SAR – Saturação por sódio; BD – Densidade do solo; PD – Densidade da partícula; POR – Porosidade do solo; TOC – Carbono orgânico total; MBN – Nitrogênio da biomassa microbiana; MBC – Carbono da biomassa microbiana; SBR – Respiração basal do solo; qCO₂ – Quociente metabólico; qMIC – Quociente microbiano; GMean – Índice enzimático do solo; BG – β-1,4 glicosidase; AcP – Fosfatase ácida; ARS – Arilsulfatase; e FDA – Hidrolise do diacetato de fluoresceína; PNPCC – Potencial de mineralização de carbono; PNPFF – Potencial de mineralização de fosforo; PNPFA – Potencial de mineralização de enxofre.

Métodos utilizados: MBC - (Vance, Brookes and Jenkinson, 1987); SBR - (Alef, 1995); qCO₂ - (ANDERSON; DOMSCH, 1993; JOERGENSEN; WICHERN, 2018); qMIC - (SPARLING, 1992); GMean - (HINOJOSA *et al.*, 2004); PNPCC, PNPFF e PNPFA - (DICK; BREAKWELL; TURCO, 1996).

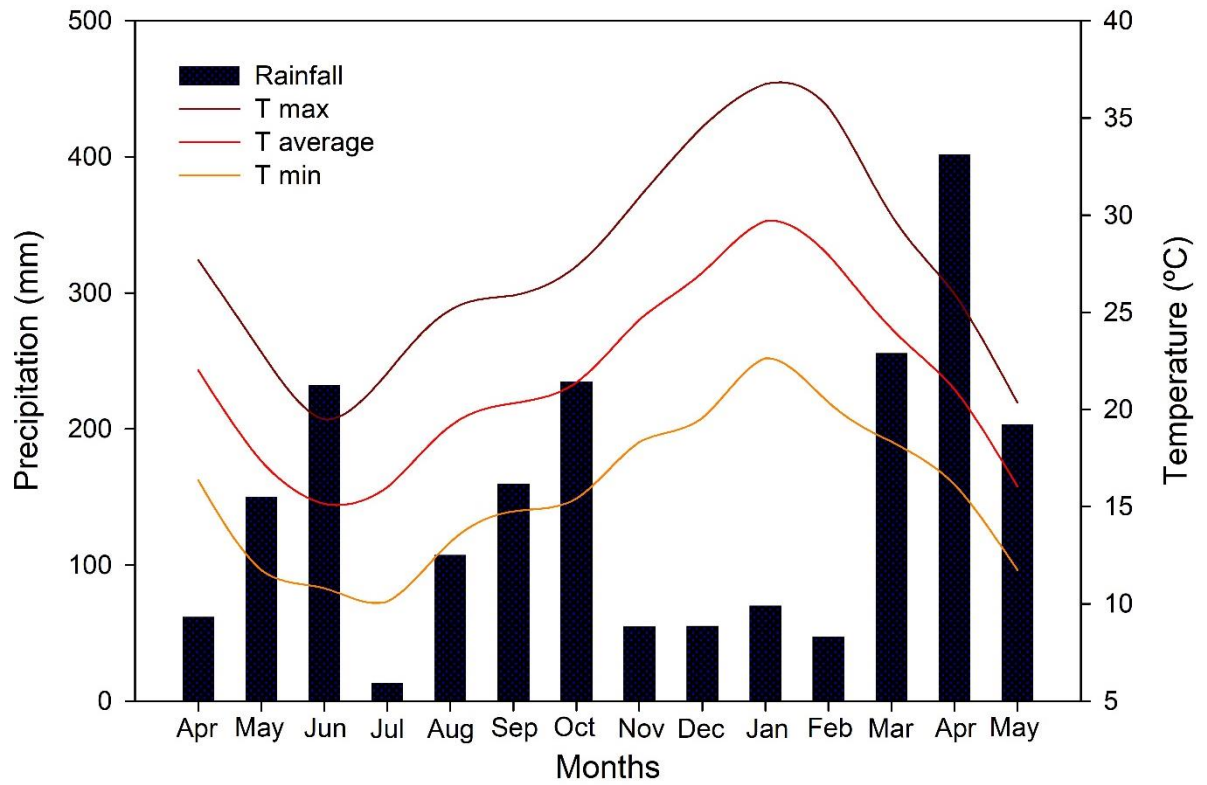


Figura S1. Precipitação e temperatura do ar na temporada 2021/2022 em São Miguel das Missões - RS (BRASIL)

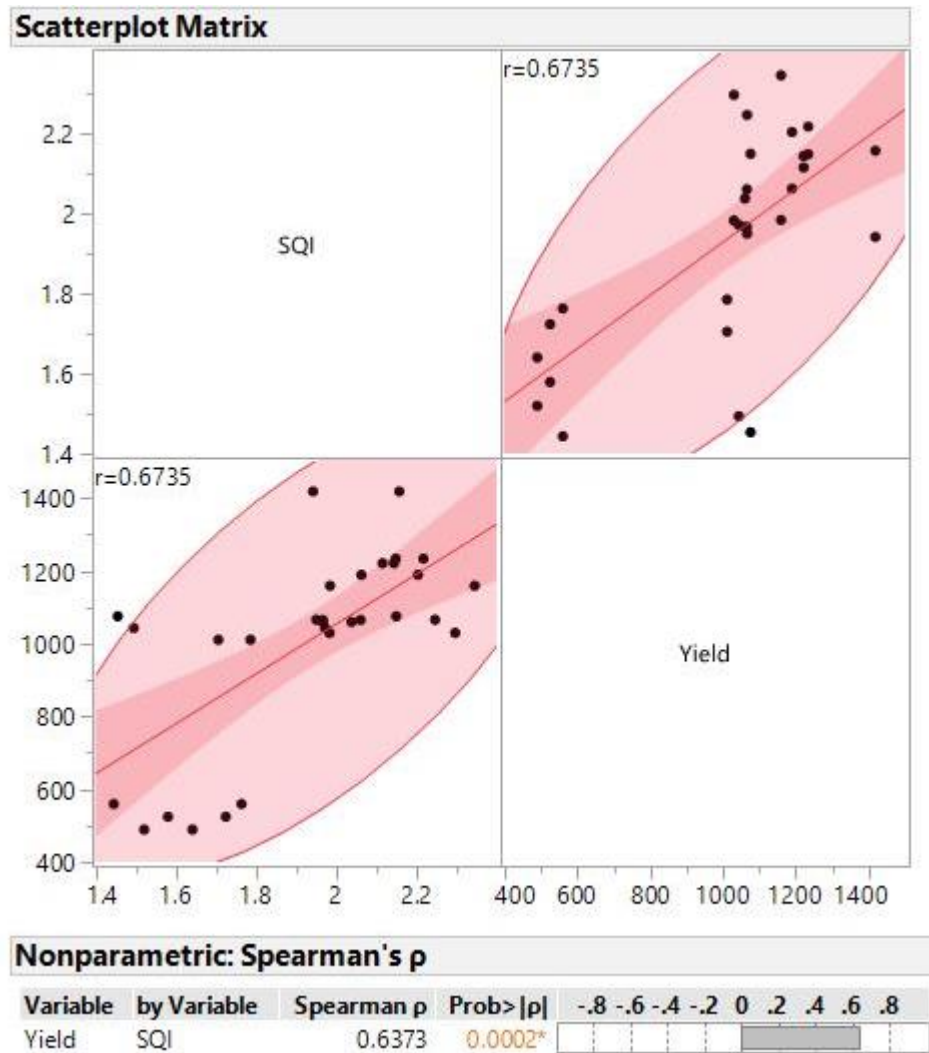


Figura S2. Correlação entre o índice de saúde do solo (SQI) e o rendimento de grãos (Yield) com coeficiente de ρ Spearman.

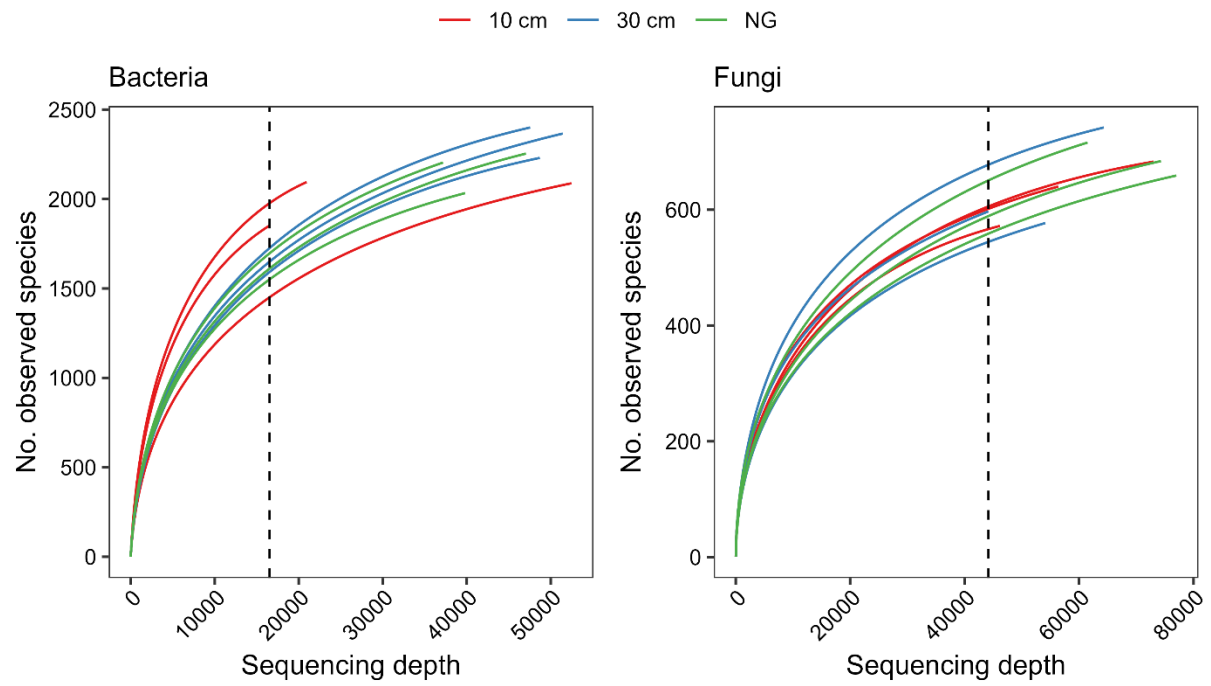


Figura S3. Curva de rarefação das sequências bacterianas (A) e fúngicas (B).

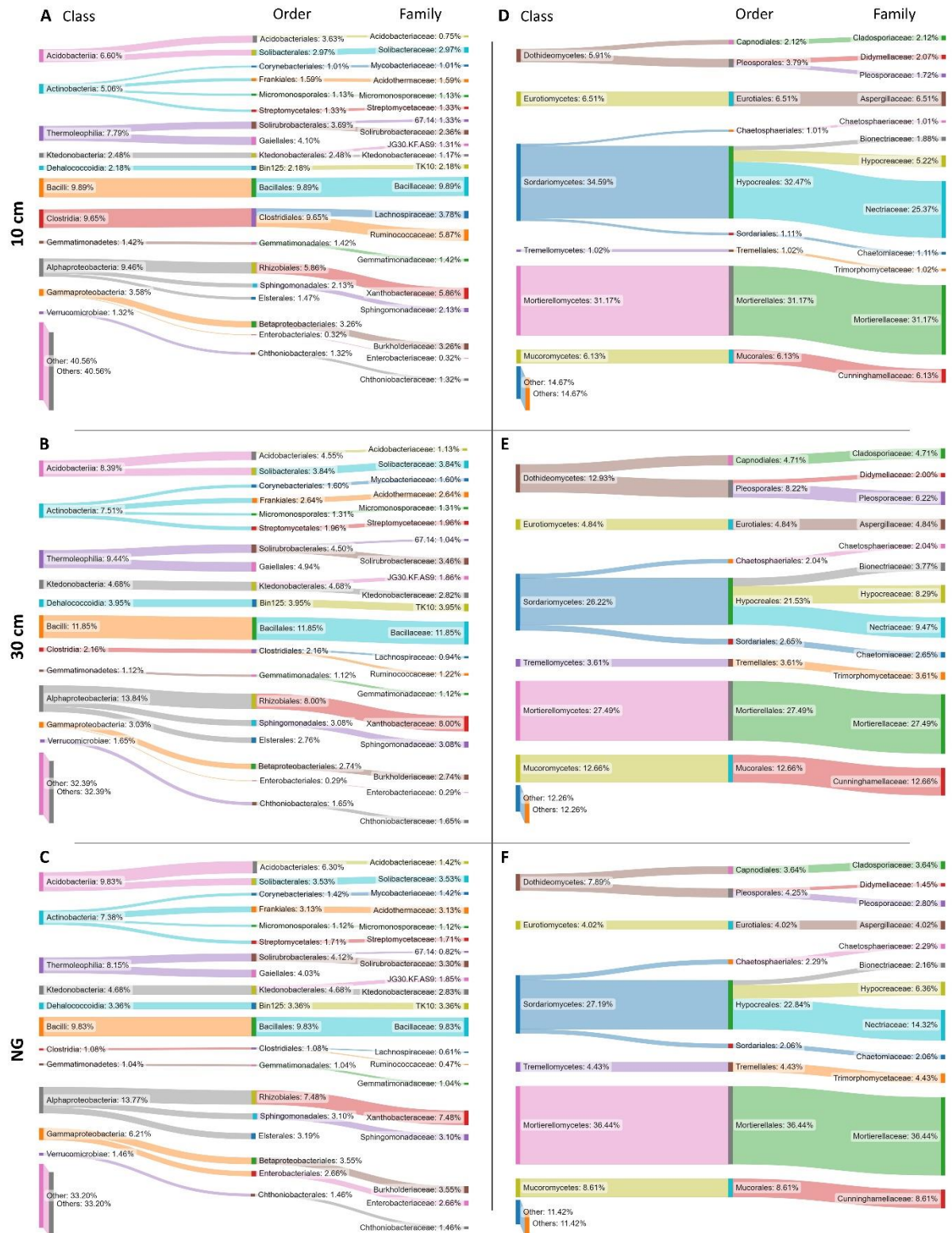


Figura S4. Diagrama de Sankey com a abundância relativa e classificação taxonômica das bactérias (A, B e C) e de fungos (D, E e F) na rizosfera da soja em SIPA sob diferentes intensidades de pastejo. NG – Sem pastejo.

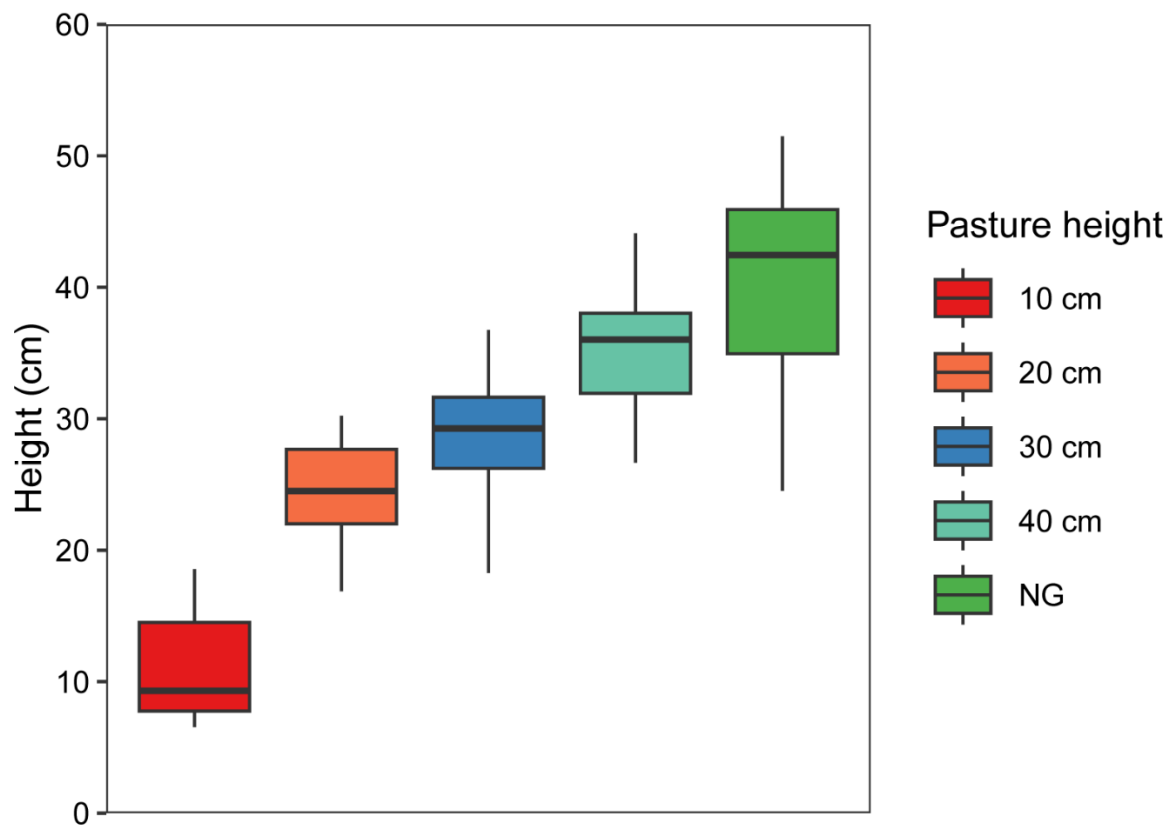


Figura S5. Boxplot das alturas reais do pasto em cada tratamento, medidas em seis avaliações com 100 pontos para cada unidade experimental.