

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DO SOLO

Jardel Henrique Passinato

**AVALIAÇÃO DA SAÚDE DO SOLO EM SISTEMAS AGRÍCOLAS SOB  
AGRICULTURA CONSERVACIONISTA NO BRASIL**

Santa Maria, RS

2022

Jardel Henrique Passinato

**AVALIAÇÃO DA SAÚDE DO SOLO EM SISTEMAS AGRÍCOLAS SOB  
AGRICULTURA CONSERVACIONISTA NO BRASIL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciência do Solo.

Orientador: Prof. Dr. Telmo Jorge Carneiro Amado

Santa Maria, RS

2022

This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001

Passinato, Jardel Henrique  
AVALIAÇÃO DA SAÚDE DO SOLO EM SISTEMAS AGRÍCOLAS SOB  
AGRICULTURA CONSERVACIONISTA NO BRASIL / Jardel  
Henrique Passinato.- 2022.  
79 p.; 30 cm

Orientador: Telmo Jorge Carneiro Amado  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa  
Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós  
Graduação em Ciência do Solo, RS, 2022

1. Agro-ecorregiões brasileiras 2. Biodiversidade do  
solo 3. Enzimas do solo 4. Matéria orgânica do solo 5.  
Qualidade do solo I. Amado, Telmo Jorge Carneiro II.  
Título.

Sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFSM. Dados fornecidos pelo autor(a). Sob supervisão da Direção da Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central. Bibliotecária responsável Paula Schoenfeldt Patta CRB 10/1728.

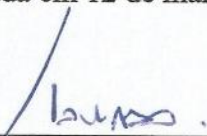
Declaro, JARDEL HENRIQUE PASSINATO, para os devidos fins e sob as penas da lei, que a pesquisa constante neste trabalho de conclusão de curso (Dissertação) foi por mim elaborada e que as informações necessárias objeto de consulta em literatura e outras fontes estão devidamente referenciadas. Declaro, ainda, que este trabalho ou parte dele não foi apresentado anteriormente para obtenção de qualquer outro grau acadêmico, estando ciente de que a inveracidade da presente declaração poderá resultar na anulação da titulação pela Universidade, entre outras consequências legais.

**Jardel Henrique Passinato**

**AVALIAÇÃO DA SAÚDE DO SOLO EM SISTEMAS AGRÍCOLAS SOB  
AGRICULTURA CONSERVACIONISTA NO BRASIL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciência do Solo.

Aprovada em 12 de março de 2022:

  
\_\_\_\_\_  
**Telmo Jorge Carneiro Amado, Dr. (UFSM) - (Videoconferência)**  
**(Presidente/Orientador)**

  
\_\_\_\_\_  
**Ben-Hur Costa de Campos, Dr. (IFRS) - (Videoconferência)**

  
\_\_\_\_\_  
**Lúcio de Paula Amaral, Dr. (UFSM) - (Videoconferência)**

Santa Maria, RS

2022

## **Agradecimentos**

Primeiramente, a Deus pela vida e por me guiar, iluminando sempre meus passos.

Aos meus pais, meus exemplos de vida, que sempre incentivaram e nunca mediram esforços para apoiar as escolhas de seus filhos.

A todos os familiares que de algum modo contribuíram para que eu chegasse até aqui.

À Karine Mariele Kunz, minha colega de graduação, pós-graduação e companheira de vida, por todo o amor, dedicação, paciência e apoio recíproco em todos os momentos ao longo desta desafiante trajetória. E também a nossa tão amada Puminha, gatinha que nos acompanhou em todas as mudanças e que nos alegrou ao longo destes importantes passos.

À Universidade Federal de Santa Maria e ao Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, junto ao corpo docente pela estrutura, aulas e apoio ao longo do curso de Mestrado.

Ao professor Telmo Jorge Carneiro Amado pela orientação, ensinamentos e excelentes oportunidades proporcionadas ao longo do curso.

Aos co-autores do artigo, Amir Kassam, Lucio de Paula Amaral e José Alan de Almeida Acosta pelas importantes e excelentes contribuições ao trabalho publicado.

Ao professor Ben-Hur Costa de Campos pelas importantes contribuições como membro da banca e excelente orientação ao longo da graduação no IFRS, que me incentivou a realizar o Mestrado em Ciência do Solo.

Aos colegas de laboratório pela amizade e apoio mútuo na execução das atividades da equipe, em especial à Marcieli Piccin, Fellipe Melo, Manoel Zinelli, Gabriel Hintz, Jorge Xavier, Gustavo Santos e Djeferson Oliveira.

Aos colegas de pós-graduação, em especial Mariana Rigueira, Lisiane Sobucki e Djoney Procknow, pela amizade, apoio e trocas de ideias.

Ao Projeto Aquarius, juntamente das empresas parceiras Stara, Cotrijal, Drakkar Solos Consultoria e OWS e, seus respectivos colaboradores, juntamente à ABDI (Agência Brasileira de Desenvolvimento Industrial) Agro 4.0 Edital 003/2020 pelo apoio financeiro ao projeto e à Biome Markers pelas análises de sequenciamento do genoma presente no solo.

Aos produtores rurais que permitiram realizar as coletas deste estudo em suas propriedades.

À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pela concessão da bolsa de estudos ao longo de boa parte do curso.

*O segredo da vida é o solo, porque dele dependem as plantas, a água, o clima e a nossa vida. Tudo está interligado. Não há ser humano saudável se o solo não for saudável.*

(PRIMAVESI, 2012).

## RESUMO

### AVALIAÇÃO DA SAÚDE DO SOLO EM SISTEMAS AGRÍCOLAS SOB AGRICULTURA CONSERVACIONISTA NO BRASIL

AUTOR: Jardel Henrique Passinato

ORIENTADOR: Telmo Jorge Carneiro Amado

A agricultura conservacionista (AC) constitui-se como a principal estratégia para regenerar a vida no solo, mas o efeito sobre a atividade enzimática e na microbiota do solo ainda é pouco documentado. Este estudo investigou as enzimas  $\beta$ -glicosidase e arilsulfatase como ferramentas para avaliar a saúde do solo a nível de campo e através da caracterização do DNA do solo, buscou-se identificar a relação do microbioma com os distintos ambientes de potencial produtivo (YEs) dentro de um campo de produção. Campos de produção em quatro estados do Brasil, situados nas principais agro-ecorregiões, foram selecionados para este estudo. Em cada campo de produção, três ambientes (alta produtividade (HYE), média produtividade (MYE) e baixa produtividade (LYE)) foram delimitados para a amostragem de solo para determinar a atividade enzimática e atributos químicos. Em um destes campos com um vasto banco de dados temporais, a caracterização do DNA do solo foi realizada. As duas enzimas no solo investigadas foram afetadas pela relação dos atributos do solo e os mais importantes deles foram identificados, onde as partículas finas de solo (argila e silte), alta CTC, alto teor de  $\text{Ca}^{2+}$ , alta relação  $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ , alto COT, NT e MOS foram promotores da atividade das enzimas, por outro lado, pH do solo em água ( $>6.5$ ), alto teor de areia, alto teor de P concentrado em camada superficial, alta temperatura, baixa disponibilidade de  $\text{Cu}^{2+}$  e  $\text{Mn}^{2+}$  diminuíram a atividade destas enzimas. Cerca de 40% dos pontos amostrados tinham baixos teores de matéria orgânica do solo, sendo estes associados à baixa atividade enzimática. Além disso, no HYE houve maior biodiversidade e uma maior presença de organismos promotores de crescimento às plantas (*Bacillus* sp., *Penicillium* sp., *Trichoderma* sp., *Pseudomonas* sp., *Bradyrhizobium* sp. e *Rhizobium* sp.), enquanto no LYE houve maior ocorrência de organismos patogênicos (*Fusarium* sp. e *Macrophomina* sp.). A atividade das enzimas  $\beta$ -glicosidase e arilsulfatase foram eficientes indicadores da biodiversidade do solo sob AC. Além disso, a atividade dessas enzimas serve como uma ferramenta eficiente para distinguir ambientes de baixo potencial produtivo em relação a ambientes de alto potencial produtivo dentro dos campos. Conclui-se que a aplicação dos três princípios integrados da AC com foco na rotação de culturas e culturas de cobertura no sistema de cultivo, resulta em melhoria da saúde do solo e produtividade das culturas. Os principais impulsionadores desse processo de regeneração da saúde do solo são a restauração da matéria orgânica do solo e do teor de nitrogênio total por meio da diversificação das culturas, correção calibrada dos nutrientes das plantas com fertilização que se concentra no aumento do teor de  $\text{Ca}^{2+}$ , evitar a compactação do solo e estimular o crescimento das raízes das plantas que irão suportar microrganismos promotores de crescimento de plantas e uma comunidade diversificada da biota do solo.

**Palavras-chave:** Agro-ecorregiões brasileiras. Biodiversidade do solo. Enzimas do solo. Matéria orgânica do solo. Qualidade do solo.

## ABSTRACT

### SOIL HEALTH CHECK-UP OF CONSERVATION AGRICULTURE FARMING SYSTEMS IN BRAZIL

AUTHOR: Jardel Henrique Passinato  
ADVISOR: Telmo Jorge Carneiro Amado

Conservation agriculture (CA) has been promoted as the main strategy to regenerate soil life but its effect on soil enzyme activity and on soil microbiota remains little documented. This study investigated the  $\beta$ -glucosidase and arylsulfatase enzymes as tools to evaluate soil health at the field level and through the characterization of soil DNA, we sought to identify the relationship between the microbiome and the different yield environments (YEs) within a production field. Croplands in four main grain-producing states in Brazil, located in the main agro-ecoregions were selected for this study. In each cropland, three environments (high yield (HYE), medium yield (MYE), and low yield (LYE)) were delineated for soil sampling to determine soil chemical attributes and enzyme activity. In one of these fields with a large temporal database, soil DNA characterization was also undertaken. The two soil enzymes investigated were affected by a range of soil attributes and the most important of these were identified, where fine soil particles (clay and silt), high CEC, high  $\text{Ca}^{2+}$  content, high  $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$  ratio, high TOC, TN and SOM were promoters of enzyme activity, on the other hand, soil pH in water ( $>6.5$ ), high sand content, high P content concentrated in the surface layer, high temperature, low availability of  $\text{Cu}^{2+}$  and  $\text{Mn}^{2+}$  reduced the activity of these enzymes. Around 40% of the data points sampled had low soil organic matter content; these were associated with low enzyme activity. Furthermore, in HYE there was more biodiversity and a higher presence of plant-growth promoters (*Bacillus* sp., *Penicillium* sp., *Trichoderma* sp., *Pseudomonas* sp., *Bradyrhizobium* sp. and *Rhizobium* sp.), while in LYE there were more plant pathogenic organisms (*Fusarium* sp. e *Macrophomina* sp.). The activity of  $\beta$ -glucosidase and arylsulfatase enzymes were efficient indicators of soil biodiversity under CA. Furthermore, the activity of these enzymes serves as an efficient tool to distinguish environments of low productive potential in relation to environments of high productive potential within the fields. It is concluded that the application of the three integrated CA principles focusing on crop rotation and cover crops in the cropping system, results in improved soil health and crop productivity. The main drivers of this soil health regeneration process are restoration of soil organic matter and total nitrogen content through crop diversification, calibrated correction of plant nutrients with fertilization that focuses on increasing  $\text{Ca}^{2+}$  content, prevent soil compaction and encourage the growth of plant roots that will support plant growth-promoting microorganisms and a diverse community of soil biota.

**Keywords:** Brazil agro-ecoregions. Soil biodiversity. Soil enzymes. Soil organic matter. Soil quality.



## LISTA DE FIGURAS

- FIGURE 1 - Geographical distribution of the fields sampled in the main agro-ecoregions of Brazil. Agro-ecoregions with different colors: green color = South (fields S-1 = Carazinho, S-2 = Não-Me-Toque and S-3 = Rosário do Sul, in Rio Grande do Sul state); orange color = Central-West (fields CW-1 = Primavera do Leste, in Mato Grosso state and CW-2 = Rio Verde, in Goiás state); gray color = Northeast (fields NE-1 = Luis Eduardo Magalhães and NE-2 = Luis Eduardo Magalhães, in Bahia state). .....43
- FIGURE 2 - (a) Projection of the dispersion of variables (b) and of the cases by principal components analysis (PCA), among soil attributes, elevation, climate and crop yield in conservation agriculture fields of main Brazilian agro-ecoregions.  $\beta$ -glucosidase (B\_gluc) and arylsulfatase (Aryl) activity and soybean crop grain yield (Current\_Yield) of the 2020/21 season were taken as the main variables in the analysis. The supplementary variables (\*) were: previous years relative yield (Prev\_yield); sand; silt; clay; total nitrogen (TN); total organic carbon (TOC); potential of hydrogen (pH); SMP index (SMP); phosphorus (P); potassium (K); soil organic matter (SOM); calcium (Ca); magnesium (Mg); cation exchange capacity (CEC); potential acidity (H+Al); bases saturation (BS); sulphur (S); zinc (Zn); copper (Cu); boron (B); manganese (Mn); calcium/magnesium relation (Ca\_Mg); calcium saturation (Sat\_Ca); magnesium saturation (Sat\_Mg); potassium (Sat\_K); average annual air temperature (T); annual precipitation (Precip); slope; elevation (Elev); normalized difference vegetation index (NDVI); (c) dispersion of variables, according to their contribution to the formation of Factors 1 and 2;  $n = 54$ . ..... 50
- FIGURE 3 - Relationships between the activity of  $\beta$ -glucosidase and arylsulfatase enzymes with soil organic matter (SOM) determined by wet oxidation, total organic carbon (TOC), and nitrogen (TN) determined by dry combustion, calcium content ( $\text{Ca}^{2+}$ ), cation exchange capacity (CEC) and  $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$  ratio in seven Brazilian fields from main agro-ecoregions. Significance codes: \*\*\*  $p < 0.001$ ; \*  $p < 0.05$ . ....52
- FIGURE 4 - Relationships among the activity of  $\beta$ -glucosidase and arylsulfatase enzymes with soil pH, sand content, copper ( $\text{Cu}^{2+}$ ) and manganese ( $\text{Mn}^{2+}$ ) in seven Brazilian fields from main agro-ecoregions. Significance codes: \*\*\*  $p < 0.001$ ; \*  $p < 0.05$ ; ns\* = not significant. .... 53

- FIGURE 5 - (a) Cluster analysis of case grouping among soil attributes, slope, climate and crop yield,  $n = 54$ ; (b)  $\beta$ -glucosidase and arylsulfatase enzyme activity and SOM content relative to the average of the field in different yield potential environments (high, medium and low) in seven Brazilian fields from main agro-ecoregions. Values followed by the same letter do not differ statistically by Tukey test ( $p < 0.05$ ), ns\* = not significant,  $n = 63$ . Error bars correspond to standard deviation. ....55
- FIGURE 6 - Relation of  $\beta$ -glucosidase and arylsulfatase enzymes activity under conservation agriculture and biodiversity assessed by DNA characterization in Southern Brazil field (S-2) N3o-Me-Toque, RS. Significance codes: \*\*  $p < 0.01$ ; \*  $p < 0.05$ .....56
- FIGURE 7 - (a) Soil biodiversity evaluated by DNA barcode approach and accumulated proportion of most abundant genera of soil microorganisms classified as (b) pathogens and (c) beneficial to plant growth under varying yield environments under conservation agriculture in Southern Brazil (S-2 field) N3o-Me-Toque, RS,  $n = 6$ .....57
- FIGURE 8 - Soil penetration resistance and soil moisture in varying environment yields in conservation agriculture in South Brazil (S-2 field). Error bars correspond to standard deviation. ....58
- FIGURE 9 - (a) Projection of the dispersion of variables by principal components analysis (PCA), among most abundant genera of soil microorganisms classified as pathogens and beneficial to plant growth evaluated by molecular analysis of DNA, soil attributes and crop yield growth in varying yield environments under conservation agriculture in Southern Brazil (S-2 field) N3o-Me-Toque, RS. Proportion of genera *Penicillium*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Trichoderma*, *Bradyrhizobium*, *Rhizobium*, *Fusarium*, *Macrophomina* and *Aspergillus* in the soil microbiome were taken as the main variables in the analysis. The supplementary variables (\*) were: soybean crop grain yield of the 2020/21 season (Soy\_y\_20\_21); corn crop grain yield of the 2019/20 season (Corn\_y\_19\_20); normalized difference vegetation index (NDVI\_20\_21), species number in the soil by molecular analysis (N\_sp);  $\beta$ -glucosidase (B\_Gluc) and arylsulfatase (Aryl) soil enzyme activity; sand; silt; clay; total nitrogen (TN); total organic carbon (TOC); potential of hydrogen (pH); pH SMP index (SMP); phosphorus (P); potassium (K); soil organic matter (SOM); calcium (Ca); magnesium (Mg); cation exchange capacity (CEC); potential acidity (H+Al); bases saturation (BS); sulphur (S); zinc

(Zn); copper (Cu); boron (B); manganese (Mn); calcium/magnesium relation (Ca\_Mg); soil electrical conductivity of 0–0.30 m depth (EC\_0\_30); soil penetration resistance, average of 0–0.40 m depth (PR\_0\_40), and macroporosity of 0.05–0.10 m; **(b)** dispersion of variables and **(c)** cluster analysis according to their contribution to the formation of Factors 1 and 2;  $n = 6$ . .....60

## LISTA DE TABELAS

- TABLE 1. Field locations, areas, average annual temperature (T), annual accumulated precipitation (P), average altitude (E) and soil texture and classification. ....43
- TABLE 2. Soil contents of phosphorus (P), potassium ( $K^+$ ), sulphur (S), aluminium ( $Al^{3+}$ ), calcium ( $Ca^{2+}$ ) magnesium ( $Mg^{2+}$ ), cation exchange capacity (CEC),  $Ca^{2+}/Mg^{2+}$  ratio, and base saturation (BS) at 0–0.10 m depth in varying yield potential environments (YE) in seven fields managed under conservation agriculture in main Brazilian agro-ecoregions. ....45
- TABLE 3. Soil texture, pH in water, potential acidity ( $H + Al^{3+}$ ), and micronutrients, zinc ( $Zn^{2+}$ ), copper ( $Cu^{2+}$ ), boron (B) e manganese ( $Mn^{2+}$ ) at 0–0.10 m depth in varying yield potential environments (YE) within fields under conservation agriculture in main Brazilian agro-ecoregions. ....46
- TABLE 4. Soybean and corn\* grain yield near soil and enzyme sampling, normalized difference vegetation index (NDVI),  $\beta$ -glucosidase e arylsulfatase soil enzyme activity, soil organic matter (SOM), total soil organic carbon (TOC), total nitrogen (TN) and carbon/nitrogen ratio (C/N), and at 0–0.10 m depth in varying yield potential environments (YE) in same field managed under conservation agriculture in main Brazilian agro-ecoregions. ....47
- TABLE 5. Pearson's correlation of  $\beta$ -glucosidase and arylsulfatase with soil organic matter (SOM), total nitrogen (TN), soil texture, cation exchange capacity (CEC), and calcium content ( $Ca^{2+}$ ) in fields in ecoregions. ....48

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CA (AC)	Conservation Agriculture (Agricultura Conservacionista)
ha	Hectare (hectare)
pH	Potential of hydrogen (potencial de hidrogênio)
SOM (MOS)	Soil organic matter (matéria orgânica do solo)
CEC (CTC)	Cation exchange capacity (capacidade de troca catiônica)
DNA	Deoxyribonucleic acid (ácido desoxirribonucleico)
NDVI	Normalized difference vegetation index (índice de vegetação da diferença normalizada)
USA	United States of America (Estados Unidos da América)
YEs	Yield environments (ambientes de potencial produtivo)
HYE	High yield environment (ambiente de alto potencial produtivo)
MYE	Medium yield environment (ambiente de médio potencial produtivo)
LYE	Low yield environment (ambiente de baixo potencial produtivo)
S-1	Field in Carazinho, Rio Grande do Sul, Brazil (talhão em Carazinho, RS)
S-2	Field in Não-Me-Toque, Rio Grande do Sul, Brazil (talhão em Não-Me-Toque, RS)
S-3	Field in Rosário do Sul, Rio Grande do Sul, Brazil (talhão em Rosário do Sul, RS)
CW-1	Field in Primavera do Leste, Mato Grosso, Brazil (talhão em Primavera do Leste, MT)
CW-2	Field in Rio Verde, Goiás, Brazil (talhão em Rio Verde, GO)
NE-1	Field in Luís Eduardo Magalhães, Bahia, Brazil (talhão em Luís Eduardo Magalhães, BA)
NE-2	Field in Luís Eduardo Magalhães, Bahia, Brazil (talhão em Luís Eduardo Magalhães, BA)
INMET	National Institute of Meteorology (Instituto Nacional de Meteorologia)
RS	Rio Grande do Sul state (Rio Grande do Sul)
MT	Mato Grosso state (Mato Grosso)
GO	Goiás state (Goiás)
BA	Bahia state (Bahia)
K <sup>+</sup>	Potassium (potássio)

P	Phosphorus (fósforo)
Ca <sup>2+</sup>	Calcium (cálcio)
Mg <sup>2+</sup>	Magnesium (magnésio)
Mn <sup>2+</sup>	Manganese (manganês)
Al <sup>3+</sup>	Aluminium (alumínio)
Cu <sup>2+</sup>	Copper (cobre)
Zn <sup>2+</sup>	Zinc (zinco)
S	Sulphur (enxofre)
B	Boron (boro)
H+Al <sup>3+</sup>	Potential acidity (acidez potencial)
Cr <sup>3+</sup>	Chrome (cromo)
TOC	Total organic carbon (carbono orgânico total)
TN	Total nitrogen (nitrogênio total)
BS	Basis saturation (saturação por bases)
C/N	Carbon/nitrogen (carbono/nitrogênio)
PCA (ACP)	Principal component analysis (análise de componentes principais)
F/B	Fungi/bacteria ratio (relação fungo/bactéria)
ACC	1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico)
IAA	indole-3-acetic acid (ácido indol-3-acético)

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO GERAL</b> .....	16
1.1. HIPÓTESE .....	18
1.2. OBJETIVOS .....	18
<b>1.2.1. Objetivo geral</b> .....	18
<b>1.2.2. Objetivos específicos</b> .....	18
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	19
2.1. SAÚDE DO SOLO E AGRICULTURA CONSERVACIONISTA .....	19
2.2. BIODIVERSIDADE E ENZIMAS DO SOLO.....	20
<b>2.2.1. <math>\beta</math>-glicosidase</b> .....	23
<b>2.2.2. Arilsulfatase</b> .....	24
<b>2.2.3. DNA do solo</b> .....	25
2.3. MICRORGANISMOS DO SOLO E SUAS INTERAÇÕES COM AS PLANTAS.....	26
2.4. AGRO-ECORREGIÕES BRASILEIRAS .....	31
<b>2.4.1. Agro-ecorregião Sul</b> .....	31
<b>2.4.2. Agro-ecorregiões Centro-Oeste e Nordeste</b> .....	32
2.5. AGRICULTURA DE PRECISÃO E AMBIENTES DE POTENCIAL PRODUTIVO..	33
2.6. ESTATÍSTICA MULTIVARIADA.....	36
<b>2.6.1. Análise de agrupamento hierárquico - AA</b> .....	36
<b>2.6.2. Análise de componentes principais - ACP</b> .....	37
<b>2.6.3. Análise fatorial - AF</b> .....	37
<b>3. ARTIGO – SOIL HEALTH CHECK-UP OF CONSERVATION AGRICULTURE FARMING SYSTEMS IN BRAZIL<sup>1</sup></b> .....	39
<b>1. Introduction</b> .....	40
<b>2. Materials and methods</b> .....	42
2.1. Agro-ecoregions, Croplands and Within-Field Yield Environments.....	42
2.2. Sampling Strategies for Soil Enzyme, Physicochemical Soil Analysis, Soil DNA Characterization and Crop Yield.....	44
2.3. Statistical Analysis .....	45
<b>3. Results and Discussion</b> .....	45

3.1.	Characterization of Soil Attributes, Crop Yield and Enzyme Activity by Yield Environments in Selected Fields.....	45
3.2.	Soil Attributes by Fields in Agro-Ecoregion and Relationship with Soil Enzyme Activity .....	47
3.3.	Enzyme Activity and Biodiversity under Varying Crop Yield Environments .....	54
<b>4.</b>	<b>Conclusions.....</b>	<b>60</b>
	<b>References.....</b>	<b>61</b>
<b>4.</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>65</b>
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>67</b>
	<b>APÊNDICE A – QUADRO DE CORRELAÇÕES DE PEARSON (MÉDIA DOS SETE CAMPOS) .....</b>	<b>77</b>
	<b>APÊNDICE B - TABELA DE AUTOVALORES E CORRELAÇÃO DAS VARIÁVEIS ORIGINAIS DA ACP DA “FIGURE 2” .....</b>	<b>78</b>
	<b>ANEXO A – CERTIFICADO DE PREMIAÇÃO NO 8<sup>th</sup> WCCA.....</b>	<b>79</b>



## 1. INTRODUÇÃO GERAL

O abastecimento de uma população global crescente que está projetada para as próximas décadas, a qual situa-se atualmente em 7,8 bilhões de pessoas, passará para aproximadamente 8,5 bilhões em 2030 e 9,4 bilhões em 2040 (ONU, 2022), exercerá uma constante e crescente pressão sobre os ecossistemas naturais e os agro-ecossistemas, devido a demanda por alimentos, fibras, energia, água e diversos produtos agrícolas. Conseqüentemente os sistemas agrícolas também estarão pressionados para a sua intensificação (KASSAM et al., 2009).

Estes ecossistemas já enfrentam desafios de sustentabilidade devido às mudanças climáticas e degradação do solo, atrelada à perda da biodiversidade, comprometendo seus serviços ambientais e a produção agrícola em diferentes escalas (KASSAM et al., 2009). Portanto, a intensificação dos sistemas agrícolas deve ser desenvolvida de uma maneira sustentável. Entretanto, a produção agrícola convencional (baseada no preparo intensivo do solo e atitudes visando somente custo-benefício) falhará no objetivo de atingir uma intensificação sustentável que forneça um meio resiliente de produção para atender as necessidades futuras (SHAXSON, 2006; KASSAM et al., 2009).

A partir deste cenário fica evidente a necessidade urgente de redesenho dos sistemas de produção agrícola, a fim de diminuir os custos ambientais, econômicos e sociais associados aos atuais sistemas de produção baseados em monocultivo e revolvimento intensivo que condicionam solos descobertos e implicam altas aplicações agroquímicas (DORAN e ZEISS 2000; LEAL et al., 2020; SHAH et al., 2021). Neste sentido, há uma necessidade e também uma oportunidade em capturar as mudanças na saúde do solo ao longo deste período de redesenho agrícola.

A Agricultura Conservacionista (AC), que se constitui em um sistema de zero ou mínimo revolvimento do solo, de alto e constante aporte de material vegetal rico em quantidade e qualidade baseado em um sistema diversificado de rotação de culturas (LEAL et al. 2020), vem sendo praticada há mais de quatro décadas nas regiões pioneiras da América do Norte e do Sul (KASSAM et al. 2009; KASSAM et al., 2019).

Dentre os mais de 200 milhões de hectares (ha) globais sob AC, o Brasil é um dos países que mais aumentaram sua área desde o início dos anos 2000 (KASSAM et al., 2021). Devido a dimensão continental do país, o Brasil apresenta distintas agro-ecorregiões, as quais apresentam particularidades edafoclimáticas e sociais que condicionam grandes variações nos sistemas de manejo e cultivo sob AC, que exigem uma avaliação integrada de seu estado afim

de promover a manutenção da saúde do solo, que por sua vez, deve manter sua funcionalidade de sustentar a produtividade vegetal e animal mantendo ou até melhorando a qualidade do ambiente (DORAN e PARKIN, 1994; DORAN e ZEISS 2000; GARBISU et al., 2011).

As consequências para a saúde do solo, resultantes desta gama de sistemas de AC de duração variável, ainda não estão muito bem documentadas. Esta é uma importante lacuna de conhecimento que precisa ser preenchida, para evitar conclusões erradas ou enganosas sobre a qualidade do solo e a eficácia da AC. Nesse sentido, bioindicadores, como a atividade enzimática do solo, são sensíveis ao manejo e estão fortemente associados à porção viva do solo (MENDES et al., 2021). Assim, a atividade enzimática do solo pode servir como um indicador integrado de vários atributos-chave do solo, apoiando sua mensuração como parte de uma avaliação holística e completa da AC (MENDES et al., 2018a).

Os distintos microrganismos do solo são dependentes de condições físicas e químicas específicas para exercerem o seu papel fundamental na ciclagem de nutrientes e na estruturação do solo. Atributos do solo, como a textura, estrutura, compactação, densidade do solo, agregação, porosidade, disponibilidade de água, potencial de hidrogênio (pH), matéria orgânica do solo (MOS), nitrogênio (N), exsudatos de raízes de plantas, salinidade, alumínio ( $Al^{3+}$ ), hidrogênio, capacidade de troca catiônica (CTC), sistemas de cultivo e condições climáticas, impulsionam a atividade microbiana do solo e sua diversidade funcional (TRIPATHI et al., 2020).

Desse modo, a construção de um microbioma diversificado na rizosfera é necessária para suprimir ou aliviar as pressões de patógenos de plantas e diminuir a incidência de doenças e sua gravidade, resultando em plantas mais vigorosas e com maior resiliência às mudanças climáticas (VAN BRUGGEN et al., 1996; TRIPATHI et al., 2020; TOOR e ADNAN, 2020). A compreensão da interação dos atributos do solo com a microbiota, bem como sua constituição é de fundamental importância para a regeneração da vida no solo.

Essas questões ainda são pouco abordadas na literatura da AC, mas o conhecimento sobre elas, criaria a oportunidade para os agricultores aplicarem o manejo do solo em sítio específico para construir e sustentar a vida do solo e a saúde das plantas. Neste estudo, buscou-se avançar no conhecimento sobre a relação entre distintos ambientes de potencial produtivo (YEs) dentro de campos de produção e atividade das enzimas  $\beta$ -glicosidase e arilsulfatase. Também procurou-se entender os principais atributos do solo que afetam a atividade enzimática nas principais agro-ecorregiões brasileiras. Finalmente, buscou-se estudar a presença de microrganismos promotores de crescimento de plantas e organismos patogênicos nos distintos YEs.

## 1.1. HIPÓTESE

O desempenho das culturas em diferentes ambientes produtivos está fortemente associado à atividade biológica do solo, que pode ser afetada positiva ou negativamente de acordo com uma complexa interação envolvendo o sistema de manejo do solo adotado, atributos do solo e o clima.

## 1.2. OBJETIVOS

### 1.2.1. Objetivo geral

O objetivo principal deste estudo foi avaliar a saúde do solo, por meio da atividade de duas enzimas como bioindicadores, em áreas de cultivo sob agricultura conservacionista de longa duração nas principais agro-ecorregiões brasileiras e, através da caracterização do DNA do solo, verificar a dinâmica do microbioma nos distintos ambientes de potencial produtivo dentro de um campo de produção.

### 1.2.2. Objetivos específicos

- i) Investigar a sensibilidade e eficiência da atividade das duas enzimas do solo estudadas em distinguir as agro-ecorregiões e ambientes de potencial produtivo dentro dos campos de produção sob agricultura conservacionista;
- ii) Avaliar os principais atributos do solo, clima e relevo que atuam como promotores e detratores da atividade enzimática e da biodiversidade do solo;
- iii) Identificar os principais microrganismos presentes nos distintos ambientes de potencial produtivo dentro de um campo de produção e;
- iv) Compreender a dinâmica entre os principais microrganismos promotores do crescimento e patógenos às plantas com os atributos do solo dentro de um campo de produção em seus ambientes de potencial produtivo.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. SAÚDE DO SOLO E AGRICULTURA CONSERVACIONISTA

A definição do conceito de saúde ou qualidade do solo está baseada no seu funcionamento dentro do ecossistema, sustentando e fornecendo importantes serviços ambientais, dentre os quais envolvem a manutenção da capacidade de produção biológica (grãos, carne, fibras, leite, energia, entre outros) e da qualidade ambiental (armazenamento e filtragem da água, sequestro de carbono (C) e ciclagem de nutrientes), melhorando a qualidade da água e do ar e dessa forma promovendo a saúde dos seres vivos (DORAN e PARKIN, 1994; GARBISU et al., 2011; BALOTA et al., 2013; MENDES et al., 2018a).

A saúde do solo em sistemas agrícolas de produção deve ser estimulada por práticas que regenerem a vida no solo. Para isso, sistemas de manejo como a AC são de fundamental importância para a condução de uma agricultura regenerativa, que visa restaurar a saúde do solo, incluindo o sequestro de C para mitigar as mudanças climáticas e reverter a perda de biodiversidade (GILLER et al., 2021).

Os três princípios interligados que definem a AC são: (a) minimizar ou abandonar a perturbação mecânica pelo revolvimento do solo de todas as formas, incluindo a não inversão das camadas do solo, reduzindo a taxa de decomposição dos resíduos das culturas, evitando incorporá-los ao solo, assim prevenindo picos de atividade biológica de curto prazo associados a fluxos de C e N do solo e a ruptura física de agregados do solo; (b) manutenção de uma cobertura vegetal com biomassa diversa ao longo do ano todo, incluindo material vegetal vivo e morto sobre o solo para proteger a superfície do solo e servir como uma fonte contínua e diversificada de substrato para uma comunidade diversificada de microrganismos do solo; e (c) aumentar a diversificação de espécies de plantas no sistema de cultivo por meio de rotações e associações de culturas, incluindo culturas de cobertura que poderiam ser inseridas em qualquer janela de tempo livre entre o cultivo de culturas comerciais, incluindo leguminosas fixadoras de N que resultam em uma entrada de biomassa de alta qualidade no solo, estimulando bactérias e fungos promotores de crescimento às plantas (KASSAM et al., 2009; LEAL et al., 2020; KASSAM et al., 2019; PIRES et al., 2020).

A AC é um sistema de aprimoramento contínuo, onde expressão de seus efeitos benéficos passam por um período de transição, geralmente sendo considerada a sua consolidação aos 9 a 10 anos desde a sua adoção a partir de um sistema convencional de cultivo ou de condições naturais (NETO et al., 2007). Por ser um sistema de constante aperfeiçoamento,

a avaliação de sua qualidade é imprescindível para conduzir a práticas que direcionem a melhoria do solo, ou seja, ao sentido oposto à degradação.

A degradação do solo é um processo rápido e no ponto de vista da conservação do solo, os piores cenários são quando as práticas convencionais de preparo do solo estão associadas a sistemas de cultivo com baixo aporte de biomassa ou períodos de pousio, principalmente sob condições de temperatura e umidade do solo altamente favoráveis à decomposição biológica em climas tropicais e subtropicais úmidos (DE BONA et al., 2008; ZANATTA et al., 2007; PILLAR et al., 2012).

O interesse crescente pela saúde do solo ganhou força ao fim da década de 1980 e início da década de 1990, após a conscientização de que o solo é um recurso vital tanto para a manutenção da sustentabilidade da produção agrícola, quanto para a preservação do ecossistema (KULINSKA et al., 1982; MELO et al., 1982; BALOTA et al., 2013; MENDES et al., 2018a). Para a avaliação da qualidade do solo, os cientistas, agricultores e instituições governamentais utilizam de indicadores da qualidade do solo (IQS). Estes indicadores devem ser capazes de identificar um conjunto de propriedades do solo, que tenham relações com os processos biológicos, físicos e químicos, que sejam acessíveis a vários usuários, aplicáveis a diversas condições e ainda sejam sensíveis a variações de manejo e de clima ao longo do tempo (VEZZANI e MIELNICZUK, 2009).

## 2.2. BIODIVERSIDADE E ENZIMAS DO SOLO

A biodiversidade do solo pode ser definida como a variedade de vida abaixo do solo, desde a abundância de genes e espécies até as comunidades que eles formam, bem como os complexos ecológicos, aos quais os microrganismos contribuem e pertencem, desde os microhabitats do solo até as paisagens. O conceito é convencionalmente usado no sentido taxonômico e denota o número de espécies distintas, mas pode ser estendido para abranger a diversidade genética, fenotípica, funcional, estrutural ou trófica (FAO, 2020).

A diversidade genética de uma comunidade microbiana, ou seja, a diversidade de espécies, pode estimular a diversidade funcional, a qual não é ligada apenas a capacidade de uma comunidade de microrganismos em transformar compostos constituídos por C como fonte de energia, mas também quando determinada função é realizada por distintas espécies (ZAK et al., 1994; LISBOA, 2009; CORDEIRO, 2011). Quando uma mesma função é realizada por diferentes espécies, é denominada de redundância funcional. Além disso, uma espécie pode desempenhar diversas funções no habitat, podendo substituir outra espécie responsável por

determinado processo. Essas características estão interligadas e contribuem para o potencial de estabilidade do ecossistema, tornando-o mais resiliente, ou seja, a comunidade microbiana presente nele é capaz de se recuperar e realizar a manutenção da sua funcionalidade sob condições de estresses (BRADLEY e DEGENS 1998; MOREIRA e SIQUEIRA, 2006; LISBOA et al., 2009; CORDEIRO et al., 2011).

O estudo da interação entre microrganismos benéficos e plantas cultivadas é crucial para prever seu papel no desenvolvimento de um agroecossistema sustentável. Microrganismos e plantas interagem entre si de várias maneiras: para disponibilidade de nutrientes, promoção de crescimento, sobrevivência e muitos outros benefícios tanto para a planta quanto para a comunidade microbiana (SINGH et al., 2020).

Os microrganismos possuem a capacidade de dar respostas rápidas a mudanças na qualidade do solo, característica que na maioria das vezes não é observada nos indicadores químicos ou físicos, podendo ser utilizados como sensíveis bioindicadores da qualidade do solo. Em alguns casos, alterações na população e na atividade microbiana podem preceder mudanças nas propriedades químicas e físicas, refletindo um claro sinal na melhoria ou na degradação do solo (ARAÚJO e MONTEIRO, 2007; BALOTA et al., 2013).

Na ciclagem de nutrientes no solo, a microbiota desempenha um papel vital e maior parte dos microrganismos benéficos estão localizados ao redor das zonas radiculares da planta, a chamada rizosfera (DE SOUZA et al., 2015; TOOR e ADNAN, 2020). Os microrganismos são indicadores da saúde do solo, bem como da capacidade produtiva do solo. A presença de MOS é dependente de que microrganismos atuem sobre ela e a convertam em uma forma disponível (húmus), neste processo liberando diferentes tipos de enzimas (TOOR e ADNAN, 2020).

As enzimas são substâncias catalisadoras, acelerando processos de fracionamento de determinados substratos, transformando moléculas maiores em menores, afim de disponibilizá-las como fonte de energia, desse modo, são mediadoras do catabolismo biológico dos componentes orgânicos e minerais do solo, atuando na ciclagem de nutrientes (ARAÚJO e MONTEIRO, 2007; KAUR et al., 2020; BAI et al. 2021).

Os organismos vivos no solo, entre eles microrganismos, fauna, raízes de plantas liberam diversas enzimas (TÓTOLA e CHAER, 2002). As enzimas do solo podem estar no interior da célula ou ligadas externamente à membrana celular, na solução do solo, adsorvidas à superfície de minerais de argila ou substâncias húmicas, em partição ou formando polímeros com substâncias húmicas, ou no espaço interlamelar de minerais de argila (BALOTA et al., 2013).

A atividade enzimática tem potencial para fornecer uma avaliação integrada do estado biológico do solo pela sua relação com a biota, a facilidade de mensuração, custo acessível, resposta rápida a mudanças no uso e manejo do solo, refletindo os aspectos do funcionamento do ecossistema, além de envolver metodologias simplificadas para suas avaliações (DICK, 1994; TABATABAI, 1994; TÓTOLA e CHAER, 2002; ARAÚJO e MONTEIRO, 2007; BALOTA et al., 2013).

A escolha das enzimas a serem analisadas baseia-se na sua sensibilidade ao manejo do solo, na sua importância na ciclagem de nutrientes e na decomposição da MOS e na simplicidade da análise. As principais enzimas utilizadas como IQS são a  $\beta$ -glicosidase, celulase (ciclagem de C), uréase, amidase (ciclagem de N), fosfatase (ciclagem do fósforo (P)) e arilsulfatase (ciclagem de enxofre (S)) (ARAÚJO e MONTEIRO, 2007).

Porém para serem utilizadas como bioindicadores em análises de rotina, Balota et al. (2013) destacaram que muitos autores reportavam a ausência de valores de referência para estes parâmetros. Neste sentido, Lopes et al. (2013) publicaram os primeiros valores referência para a atividade das enzimas  $\beta$ -glicosidase, celulase, fosfatase ácida e arilsulfatase para Latossolos Vermelhos de Cerrado de textura argilosa. Mais recentemente, Mendes et al. (2018a) propuseram a atividade das enzimas  $\beta$ -glicosidase e arilsulfatase como indicadores-chave para a compreensão da função da ciclagem de nutrientes do solo, atribuindo pesos semelhantes a essas enzimas em relação à sua importância para essa função específica e realizaram ajustes nestes valores de níveis críticos para estas enzimas em Latossolos do Cerrado.

Essas duas enzimas do solo estão gradualmente sendo incluídas nas análises de rotina do solo no Brasil (MENDES et al., 2021), pois se mostraram bioindicadores eficientes nos solos do Cerrado (Centro-Oeste) brasileiro, atuando como indicadores de alerta de mudanças na qualidade do solo, associadas a práticas de manejo da produção adotadas (MENDES et al., 2018a; MENDES et al., 2019). Além disso, essas enzimas estão fortemente associadas a produtividade das culturas e ao conteúdo de MOS (LOPES et al., 2013), encaixando-se bem na necessidade de definir limites críticos destes bioindicadores-chave (LOPES et al., 2013; MENDES et al., 2018b; MENDES et al., 2019). Para isso, também foi proposta uma padronização de amostragem, incluindo a posição na superfície do solo (amostragem de um ponto na linha e três em ambas entrelinhas de cultivo), profundidade de amostragem (0-10 cm), época (pós-colheita), bem como o pré-tratamento das amostras (secagem do solo ao ar antes da realização das análises de laboratório) (MENDES et al., 2019).

De acordo com o levantamento de Sobucki et al. (2021), o interesse científico e o número de estudos publicados sobre a atividade enzimática no solo, vêm crescendo e a

aplicação desse conhecimento no manejo sustentável de ambientes agrícolas, traz perspectivas futuras promissoras.

### 2.2.1. $\beta$ -glicosidase

As glicosidases são enzimas abundantemente localizadas no solo, envolvidas na catalisação da hidrólise de vários glicosídeos presentes em restos de plantas em decomposição no interior do solo, sendo sua denominação variada de acordo com o tipo de ligação que hidrolisa (TABATABAI, 1994; BALOTA et al., 2013; ADETUNJI et al., 2017). Apresenta-se como um mecanismo para obtenção de fonte de energia de C crucial para a existência de numerosos microrganismos dentro do solo (ESEN 1993; BANDICK e DICK, 1999; KAUR et al., 2020).

A despolimerização da celulose presente nos resíduos de plantas é realizada da seguinte maneira: em um primeiro momento ocorre a ação da enzima endoglucanase, que corta aleatoriamente as ligações  $\beta$ -1,4 glicosídicas, quebrando assim a longa cadeia de celulose, assim, com as cadeias moleculares quebradas acabam tendo uma extremidade redutora e outra não redutora (WALLENSTEIN E BURNS, 2011; CHEN, 2015; SOBUCKI et al., 2021). Posteriormente, ocorre a ação da celobiosidase nas cadeias curtas de celulose, onde a celobiosidase compreende dois componentes que cortam, respectivamente, glicose e celobiose da extremidade redutora da cadeia longa (WALLENSTEIN E BURNS, 2011; CHEN, 2015; THAPA et al., 2020; SOBUCKI et al., 2021). Após isso, são liberados fragmentos de celobiose (dissacarídeos compostos por duas moléculas de glicose unidas por ligações  $\beta$  (1 $\rightarrow$ 4)). A  $\beta$ -glicosidase atua na celobiose e outras celodextrinas solúveis em água a partir da extremidade redutora, resultando em moléculas de glicose que podem então ser absorvidas pelas células microbianas (WALLENSTEIN E BURNS, 2011; SOBUCKI et al., 2021).

Apesar das enzimas celulases não fornecerem nutrientes às plantas de forma direta, a glicose resultante de sua ação é necessária para o crescimento dos microrganismos do solo, que por sua vez controlam a disponibilidade de N, P, S e outros nutrientes, promovendo o crescimento das plantas por outros meios (DOTANIYA et al., 2019; SOBUCKI et al., 2021). Levando-se em consideração de que a  $\beta$ -glicosidase atua na etapa final da despolimerização da celulose, sendo a última enzima envolvida no processo, sua atividade pode ser considerada um parâmetro adequado para avaliar a atividade microbiana e a saúde do solo (SOBUCKI et al., 2021).

A atividade da  $\beta$ -glicosidase, desse modo, é influenciada pela qualidade dos resíduos de



culturas e por diversas práticas de manejo do solo (ADETUNJI et al., 2017), se apresentando como um indicador confiável da qualidade do solo devido a sua estreita relação de dependência da fração orgânica do solo na ciclagem de C, apresentando um sinal precoce de alterações em seus compartimentos, antes que ocorram perdas drásticas de MOS (KAUR et al., 2020). Estudos corroborando com isso, demonstram que AC tende a aumentar a atividade da  $\beta$ -glicosidase além da biomassa microbiana, C e N do solo, em relação a sistemas de preparo convencional, principalmente nas primeiras camadas do solo (MANKOLO et al., 2012; PANDEY et al., 2014; PIRES et al., 2020).

### 2.2.2. Arilsulfatase

A enzima arilsulfatase desempenha um papel essencial no ciclo do S do solo, mediando a transformação do éster sulfato orgânico, através da quebra da ligação S-oxigênio, resultando em sulfato inorgânico ( $\text{SO}_4^{2-}$ ), a forma em que o S é preferencialmente absorvido pelas plantas, estando assim, esta enzima amplamente difundida nos solos (TABATABAI, 1994; GANESHAMURTHY et al., 1995; KERTESZ e MIRLEAU, 2004; KAUR et al., 2020).

Esta enzima foi detectada pela primeira vez por Tabatabai e Bremner (1970) e determinada em cepas de bactérias (*Actinobacteria*, *Pseudomonas*, *Klebsiella* e *Raoultella*), fungos (*Trichoderma* sp. e *Eupenicillium* sp.), plantas e animais (NICHOLLS e ROY, 1971) podendo ser tanto intracelular como extracelular (SOBUCKI et al., 2021).

O S está presente em aminoácidos, como metionina e cisteína, tornando a MOS o maior reservatório de S do solo (LUCHETA e LAMBAIS, 2012; FLIS e JONES, 2020; SOBUCKI et al., 2021). Arilsulfatases são secretadas consideravelmente por bactérias para o ambiente externo como resposta à limitação de S (MCGILL e COLLE, 1981). Uma parte do  $\text{SO}_4^{2-}$  é utilizado no metabolismo microbiano, enquanto outra fração estará disponível na solução do solo para absorção pelas plantas (SOBUCKI et al., 2021). O S é um nutriente importante na nutrição das culturas de soja e milho e solos tropicais frequentemente são deficientes em sua disponibilidade para as plantas (LOPES et al., 2018; MENDES et al., 2021).

Assim como a atividade da  $\beta$ -glicosidase, a atividade da arilsulfatase foi relatada mais alta em sistemas sob AC em comparação com outros sistemas de preparo do solo (MANKOLO et al., 2012) e esteve relacionada a produtividade relativa acumulada das culturas (LOPES et al., 2013), estando correlacionada com a biomassa microbiana do solo e MOS (BALOTA et al., 2013; XU et al., 2015).

### 2.2.3. DNA do solo

O termo metagenômica refere-se a uma abordagem baseada na investigação das moléculas de DNA de diversas populações microbianas em uma amostra, sendo constituído pela análise genômica de DNA microbiano, o qual é extraído diretamente de amostras ambientais, contornando a necessidade e as dificuldades de cultivo destes microrganismos (HANDELSMAN et al., 1998; PIRES, 2019).

O avanço da metagenômica tornou possível a determinação da diversidade e a atividade de comunidades, vias metabólicas, microrganismos ou genes específicos e dominantes, passando a ser empregada em estudos em ambientes diversos, entre eles o solo (STEELE e STREIT, 2005; BALOTA et al., 2013). Além disso, o uso de técnicas moleculares em ecologia microbiana possibilitou a descoberta de novos microrganismos até então desconhecidos, muitos dos quais não são possíveis de serem cultivados em metodologias convencionais (WHITMAN et al., 1998; MACRAE, 2000; PEREIRA et al., 2006).

Deste modo, a disponibilidade de novos e avançados métodos moleculares baseados em ácidos nucleicos do solo, revolucionou os estudos da microbiota do solo, em particular, a compreensão da enorme diversidade de micróbios do solo cresceu, abrindo novos desafios sobre o funcionamento e as interações microbianas (ELSAS e BOERSMA, 2011). Segundo Thies (2015), os métodos moleculares nos permitiram o acesso a 90-99% da comunidade biológica do solo, em grande parte não descrita.

Thies (2015), destaca que a metagenômica envolve a análise em larga escala de genomas microbianos extraídos do solo, onde a metatranscriptômica é o estudo dos genes sendo expressos pelos membros ativos da comunidade biótica do solo e baseia-se na análise de transcrições de RNA; o estudo de proteínas extraídas da amostra ambiental é a província da metaproteômica; enquanto a metabolômica abrange o estudo de metabólitos, incluindo açúcares, lipídios, aminoácidos e nucleotídeos e recentemente, o volatiloma do solo (compostos orgânicos voláteis com atividade biológica) começou a ser estudado (INSAM, 2013). Essas novas abordagens estão permitindo identificar e avaliar de forma abrangente a atividade e função dos membros da comunidade biológica do solo (NANNIPIERI et al., 2014; THIES, 2015).

Os alvos mais comuns para caracterizar as comunidades microbianas são os genes rRNA devido à sua importância no estabelecimento de relações filogenéticas e taxonômicas (WOESE et al., 1990; THIES, 2015). Os genes mudam à medida que adquirem mutações fixas ao longo do tempo, a modo de que o número de diferenças entre duas sequências homólogas reflete tanto

a taxa evolutiva das sequências quanto o tempo que as separa, ou seja, há quanto tempo elas não têm um ancestral comum, desse modo, diferentes sequências precisam ser selecionadas para resolver a variação em diferentes níveis taxonômicos (THIES, 2015).

O DNA não codificante, geralmente evolui mais rápido do que o DNA transcrito, pois está sob pressão de seleção para permanecer inalterado, portanto, as regiões espaçadoras intergênicas evoluem mais rapidamente do que outras sequências. Os mais lentos para mudar são os genes estruturais de rRNA, embora estes também tenham regiões variáveis que são exploradas regularmente para caracterizar comunidades biológicas do solo (THIES, 2015).

A identificação molecular de microrganismos cultiváveis é realizada por meio regiões de genes codificadores de rRNA. Estes genes apresentam áreas variáveis e conservadas de um microrganismo para outro, podendo então serem utilizadas para identificação de microrganismos. Esta disposição do DNA permite que estas sequências sejam amplificadas pelo método da reação em cadeia da polimerase (PCR) e depois, sequenciados (BRUNALE, 2017).

A PCR é uma técnica altamente sensível, onde são obtidas milhões de cópias de sequências de ácidos nucleicos, por meio de uma reação enzimática, partir de diminutas quantidades de sequências de DNA. Esta técnica permite obter milhões de cópias de um segmento específico de DNA por meio da ação da enzima Taq DNA polimerase e de oligonucleotídeos iniciadores (*primers*) sobre um DNA molde. É realizada em um equipamento automatizado e computadorizado, denominado termociclador, que promove a alternância de temperaturas por determinados períodos de tempo, possibilitando a ocorrência de ciclos repetitivos de desnaturação e síntese do DNA (GANDRA et al., 2008; BRUNALE, 2017).

A região V3 de genes 16S rRNA é um alvo comum na análise de diversidade bacteriana, enquanto o espaçador transcrito interno (ITS) é usado frequentemente para estudos de diversidade fúngica, pois os genes 18S rRNA não são suficientemente variáveis (THIES, 2015; BRUNALE, 2017). Essas estruturas possuem regiões altamente conservadas intercaladas com regiões variáveis o que permite o desenvolvimento de primers, para sua amplificação e, posteriormente, seu sequenciamento (BRUNALE, 2017).

### 2.3. MICRORGANISMOS DO SOLO E SUAS INTERAÇÕES COM AS PLANTAS

O solo, em sua complexa dinâmica, é constituído por componentes orgânicos e inorgânicos, onde os microrganismos do solo (componente orgânico) são constituintes essenciais para seu funcionamento (MENDES et al, 2018a; OZIMEK e HANAKA, 2020). Boa parte da microbiota atua como decompositores capazes de degradar uma série de compostos e

criar um ambiente de solo muito dinâmico, onde suas atividades podem resultar em uma maior biodisponibilidade de elementos-chave como N, COT, P, e outras substâncias não exclusivamente para si, mas também para outros organismos, o que é crucial em solos agrícolas (OZIMEK e HANAKA, 2020). Por outro lado, há uma gama de microrganismos que atuam como fitopatógenos, comprometendo o crescimento e a produtividade das plantas (SHORESH et al., 2010; SHAH et al., 2021).

A rizosfera é a região do solo com a interferência de diversos compostos secretados pelas raízes. Nesta zona é onde há maior concentração de microrganismos que mantém associações com as plantas, as quais podem ser benéficas ou não, portanto essa região se constitui como um “*hot-spot*” da saúde do solo (DE SOUZA et al., 2015). Os chamados microrganismos promotores do crescimento vegetal pertencem a um grupo heterogêneo e benéfico de microrganismos que podem ser encontrados na rizosfera, na superfície radicular ou associados a ela (associação mútua), que são capazes de potencializar o crescimento das plantas, regular processos fisiológicos, protegê-las de doenças e estresses abióticos (DIMKPA et al., 2009; GROVER et al., 2011; GLICK, 2012; DE SOUZA et al., 2015; SHAH et al., 2021).

Entre os principais gêneros de organismos promotores de crescimento de plantas, estão *Bacillus* e *Pseudomonas*, conhecidos como bactérias promotoras de crescimento às plantas (DE SOUZA et al., 2015; KHAN et al., 2020); *Penicillium* e *Trichoderma*, conhecidos como fungos promotores de crescimento às plantas e agentes de biocontrole (ETHUR et al., 2007; SHORESH et al., 2010; RADHAKRISHNAN et al., 2014; KHAN et al., 2020) e; *Bradyrhizobium*, *Rhizobium* e *Azospirillum* atuando na fixação atmosférica de N (VANLAUWE et al., 2019; CASSÁN et al., 2020).

Estes microrganismos podem sintetizar diferentes tipos de metabólitos vegetais como cianeto de hidrogênio, 2,4-diacetilfloroglucinol; hormônios como ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC) desaminase (regula a produção de etileno vegetal metabolizando ACC antes que ele possa ser convertido em etileno), ácido indol-3-acético (IAA) (afeta a divisão, extensão e diferenciação das células vegetais, estimula a germinação e a taxa de desenvolvimento do xilema e das raízes; controla os processos de crescimento vegetativo, a formação de raízes laterais e adventícias; medeia as respostas à luz, gravidade, afeta a fotossíntese, a formação de pigmentos, a biossíntese de vários metabólitos e a resistência a condições estressantes), ácido salicílico e jasmônico (responsáveis pela tolerância à seca em plantas e induzir resistência a patógenos); antibióticos, por exemplo, fenazina e; compostos voláteis que estimulam o crescimento das plantas (GLICK, 2012; DE SOUZA et al., 2015; KHAN et al., 2020; SINGH et al., 2020).

Essas estratégias podem ser classificadas de duas maneiras, direta e indireta. As estratégias diretas incluem a produção de fitohormônios, mineralização de compostos orgânicos, solubilização de nutrientes minerais e fixação de nitrogênio. As estratégias indiretas neutralizam ou previnem completamente os efeitos nocivos dos patógenos das plantas por fitoquímicos que aumentam a resistência natural das plantas (YASMIN et al., 2020).

*Azospirillum* é um dos gêneros de bactérias promotoras de crescimento vegetal mais estudadas, abrangendo pelo menos 22 espécies, incluindo 17 espécies firmemente validadas, as quais foram identificadas, isoladas de solos agrícolas, sendo a espécie *Azospirillum brasilense* a mais conhecida (CASSÁN et al., 2020). As espécies de *Azospirillum* fixadoras de nitrogênio, correspondem às classes diazotróficas endofíticas opcionais que colonizam a superfície e o interior das raízes (SHAH et al., 2021). *Azospirillum* também promove o crescimento de raízes e aumentam a taxa de absorção de água e minerais, incluindo a solubilização de P por algumas cepas (FUKAMI et al., 2018; CASSÁN et al., 2020), sendo muito estudada nas culturas como soja, milho e trigo, para os quais a bactéria provou ter eficiência agrônômica (SHAH et al., 2021).

Além disso, estudos demonstram mecanismos de resistência sistêmica induzida, mediada pelo aumento dos níveis de fitohormônios via ácido jasmônico/etileno, incluindo também auxinas, citocininas, giberelinas e ácido abscísico que auxiliam na mitigação de estresses abióticos, como salinidade e seca (FUKAMI et al., 2018). Também atua na resistência sistêmica adquirida, estando relacionada ao controle biológico de fitopatógenos, que é controlado por níveis intermediários de ácido salicílico, possibilitado pela síntese de sideróforos, assim, limitando a disponibilidade de ferro para fitopatógenos ou causando alterações no metabolismo da planta hospedeira, incluindo a síntese de uma variedade de metabólitos secundários que aumentam a resistência da planta à infecção por patógenos (FUKAMI et al., 2018).

O uso comercial de *Azospirillum* é difundido na América do Sul, com mais de 100 produtos já no mercado na Argentina, Brasil e Uruguai (SHAH et al., 2021). A inoculação combinada de leguminosas com rizóbios e *Azospirillum* (co-inoculação), tornou-se uma prática agrícola emergente nos últimos anos, principalmente para a soja e o feijão, apresentando alta reprodutibilidade e eficiência em condições de campo, permitindo benefícios como o aumento e precocidade para a nodulação pelos rizóbios (FUKAMI et al., 2018; SHAH et al., 2021).

Os rizóbios (gêneros *Bradyrhizobium* e *Rhizobium*) atuam na fixação biológica do N através da formação de nódulos nas raízes das plantas leguminosas em uma associação simbiótica (DE SOUZA et al., 2015; SINGH et al., 2020; SHAH, et al., 2021). Nestes nódulos,

os rizóbios transformam-se em estruturas sem forma definida chamados bacteróides, são nestas estruturas onde ocorre a conversão do nitrogênio atmosférico ( $N_2$ ) em amônia ( $NH_3$ ) (CARDOSO et al., 1992; SINGH et al., 2020).

Os nódulos proporcionam um ambiente microanaeróbico perfeito, devido ao seu tamponamento tecidual, juntamente com alta atividade respiratória do bacteróide para proteger a nitrogenase, que é um complexo enzimático sensível ao oxigênio que catalisa todo o processo de conversão (SINGH et al., 2020). Além disso, uma proteína monomérica conhecida como “leg hemoglobina” liga a molécula de oxigênio, esta substância é quem previne a inativação da nitrogenase pelo oxigênio e ao mesmo tempo facilita o transporte de  $O_2$  para os bacteróides. (CARDOSO et al., 1992; SINGH et al., 2020). A amônia é imediatamente transferida do bacteróide para o citoplasma da célula vegetal hospedeira, onde é assimilada e utilizada na fabricação de compostos orgânicos nitrogenados (CARDOSO et al., 1992). A fixação biológica é a principal fonte de N para a cultura da soja (DE SOUZA et al., 2015) e estima-se que anualmente 200 milhões de toneladas são produzidas via fixação biológica de N (PEOPLES et al. 2009), sendo a inoculação e re-inoculação destes microrganismos uma estratégia fundamental (VANLAUWE et al., 2019).

Várias espécies de *Penicillium*, assim como dos gêneros *Bacillus* e *Pseudomonas*, estão entre os principais microrganismos que desempenham a função de solubilizadores de P no solo (DE SOUZA et al., 2015; KHAN et al., 2020; SINGH et al., 2020). Os microrganismos solubilizadores de P representam aproximadamente 40% do potencial de solubilização de P, estes atuam no P do solo através de mecanismos de acidificação do solo, pela liberação de enzimas (como fosfatases e fitases) ou pela produção de carboxilatos como gluconato, citrato e oxalato (SINGH et al., 2020).

A capacidade destes organismos na solubilização de fosfatos inorgânicos do solo, como  $Ca_3(PO_4)_2$ ,  $FePO_4$  e  $AlPO_4$ , através da produção de ácidos orgânicos, enzimas, sideróforos e íons hidroxila (SINGH et al., 2020) são de grande importância agrícola, principalmente em solos tropicais, altamente intemperizados, como é o caso dos Latossolos, cujo os quais rapidamente imobilizam formas inorgânicas solúveis de P por sorção em superfícies de minerais argilosas do solo (gibbsita, hematita, goethita) ou por precipitação com Fe, Al ou Ca, tornando-o indisponível às plantas (SANTOS et al., 2018; PAVINATO et al., 2020).

Outra forma de aumento na eficiência de absorção do P pelas plantas mediada por microrganismos, ocorre através da mobilização de P, por meio de micorrizas que estabelecem uma associação simbiótica entre o fungo e as raízes de uma série de plantas, aumentando a capacidade de aquisição deste nutriente pelo aumento de área do solo explorada (SINGH et al.,

2020).

O biocontrole de agentes patógenos às plantas exercido por estes microrganismos é outro ponto de extrema importância. Entre os principais microrganismos benéficos que tem esta capacidade, estão espécies dos gêneros *Trichoderma*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Azospirillum* e *Penicillium* (DE SOUZA et al., 2015; SINGH et al., 2020; SHAH, et al., 2021).

*Trichoderma* são fungos ascomicetos assexuados, produtores de esporos, que são facilmente isolados, cultiváveis em substratos e presentes em quase todos os solos e outros habitats diversos (RUSH et al., 2021). Ele é considerado um fungo de biocontrole e atua sobre numerosos patógenos foliares, radiculares e de frutos e até mesmo invertebrados, como nematóides (SHORESH et al., 2010). Os efeitos das espécies de *Trichoderma* em outros organismos são amplamente influenciados pela produção e secreção de metabólitos, que atuam como moléculas sinalizadoras de comunicação entre microrganismos e seus hospedeiros, ou como agentes de defesa em interações com organismos vizinhos estimulando ou inibindo a biossíntese de outros metabólitos (RUSH et al., 2021). Vários efeitos deste gênero são relatados para controlar doenças causadas por *Fusarium* sp. (SHAH et al., 2020).

Radhakrishnan et al. (2014) reportaram que algumas cepas de *Penicillium* podem atuar como um biofertilizante (fonte de IAA e giberelina) e um agente de biocontrole para melhorar o crescimento das plantas e aumentar a sobrevivência das plantas contra o estresse salino e a infecção por *Fusarium* sp. Essa atividade antagônica contra patógenos, se deve a produção de antibióticos como 2,4-diacetilfloroglucinol, pioluteorina, pirrolnitrina, piocianina, oligomicina e fenazina e induzem resistência em plantas, ativando vários sinais de defesa (NIELSON et al., 1998; RADHAKRISHNAN et al., 2014).

Também há estudos que comprovam o controle sobre *Macrophomina* sp. (outro importante patógeno causador de podridões em culturas de grãos como soja e milho) por *Trichoderma* (ELAD et al., 1986) e além dele, *Bacillus* e *Pseudomonas* também demonstraram potencial no controle deste patógeno (YASMIN et al., 2020). Ainda, a eficácia de *Bacillus* sp. foi identificada em várias plantas de cultivo para controlar diferentes patógenos como *Rhizoctonia solani*, *Colletotrichum acutatum*, *Colletotrichum capsici*, *Pythium aphanidermatum* e *Colletotrichum gloeosporioides*; e *Pseudomonas* sp. exibem atividade antifúngica contra *Rhizoctonia solani*, *Pyricularia oryzae* e *Xanthomonas oryzae*, *Fusarium oxysporum* em ambientes in vitro e de campo (SHAH et al., 2020).

## 2.4. AGRO-ECORREGIÕES BRASILEIRAS

Atualmente, o Brasil possui cerca de 43 M ha de áreas agrícolas manejadas sob AC com distintos níveis de implementação situadas em diferentes agro-ecorregiões, refletindo a dimensão continental do país (quinto maior país do mundo em termos de área) e diversas tradições de cultivo agrícola (KASSAM et al., 2019). Esta vasta dimensão territorial do país condiciona distintos sistemas de manejo e rotações de culturas que se enquadram de acordo com as especificidades de cada agro-ecorregião, partindo de fatores edafoclimáticos (solos, relevo e clima), até fatores culturais, econômicos e sociais, criando um mosaico de sistemas de manejo. Estes sistemas de manejo variam de sistemas de AC situados nos primeiros anos de transição em relação a agricultura convencional, até sistemas de AC maduros que foram transformados por agricultores pioneiros do plantio direto há várias décadas.

Entre as principais agro-ecorregiões agrícolas brasileiras, estão a agro-ecorregião Sul, Centro-Oeste e Nordeste. Locais onde os solos em sua maioria são naturalmente ácidos com altos teores de óxidos de alumínio e ferro, baixos valores de CTC e teores de MOS, características consideradas como obstáculos intransponíveis para a produção de culturas em latitudes tropicais (BUOL, 2009), mas que podem se tornar extremamente produtivos e resilientes, desde que adequadamente manejados.

### 2.4.1. Agro-ecorregião Sul

A agro-ecorregião Sul, que abrange os estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná, possui dois períodos distintos de cultivos ao longo do ano safra para culturas produtoras de grãos, período de inverno e verão. O maior condicionador disto é o clima, que apresenta quatro estações bem definidas, chuvas bem distribuídas ao longo do ano, o qual é classificado predominantemente como Cfa, nas regiões com altitude de até 600 m (verão quente) e em menor proporção Cfb em regiões com altitudes superiores a 650 m, de acordo com a classificação de Köppen, onde a temperatura média anual se situa entre 16 a 20 °C e com precipitação anual em torno de 1800 mm (ALVAREZ et al., 2013). No entanto, por efeito da continentalidade e da menor altitude, normalmente ocorrem noites quentes e umidade relativa baixa, além de eventos de estiagem, por vezes durante períodos prolongados (anos de La Niña) nas regiões de clima Cfa (TIECHER et al., 2016).

Esta agro-ecorregião, atualmente, é responsável por aproximadamente 30% da produção agrícola do país, levando-se em consideração cereais, oleaginosas e leguminosas (IBGE, 2022).



Em relação aos sistemas de cultivos anuais, ao longo do ano safra, o período de inverno geralmente é o momento onde há a presença de maior diversidade de espécies de culturas, predominando culturas produtoras de grãos (como o trigo e cevada), pastagens (azevém) e plantas de cobertura do solo, incluindo policultivos. Já no período de verão as principais culturas são a soja, o milho e o arroz, sendo a primeira a cultura predominante (ocupando até 90% da área de cultivo em algumas regiões do estado do RS) (PASSINATO et al., 2020).

Os solos predominantes desta agro-ecorregião são Latossolos, Neossolos, Argissolos, e Cambissolos com respectivamente 20,2, 17,9, 16,7 e 16,5% da área ocupados por estas classes de solos (IBGE, 2019). Já no Bioma Pampa (metade sul do RS) predominam Argissolos, Planossolos, Gleissolos, Neossolos, Plintossolos, Cambissolos e Latossolos de textura arenosa nos horizontes superficiais (PEDRON e DALMOLIN, 2019). Mais de 60% do relevo desta agro-ecorregião situa-se em área de planalto, onde condicionam solos altamente intemperizados como Latossolos e Argissolos e, ainda nestas condições, em porções de relevo com maior declividade ou mais planas há a ocorrência de solos mais jovens, devido às dinâmicas do relevo e água, condições climáticas e material de origem, as quais limitaram ou não permitiram a evolução destes solos, no caso dos Neossolos (SANTOS et al., 2018; IBGE, 2019). Em áreas de várzea há a ocorrência de solos mal drenados (Planossolos e Gleissolos) (PEDRON e DALMOLIN, 2019).

#### **2.4.2. Agro-ecorregiões Centro-Oeste e Nordeste**

As agro-ecorregiões Centro-Oeste (Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Goiás e Distrito Federal) e Nordeste (Maranhão, Piauí, Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco, Alagoas, Sergipe e Bahia) (Cerrado), apresentam distinções de manejos e períodos de cultivos ao longo do ano safra em relação à agro-ecorregião Sul. O clima destas agro-ecorregiões é caracterizado predominantemente como Aw, segundo a classificação de Köppen, onde a temperatura média anual situa-se entre 20 a 26 °C (ALVAREZ et al., 2013). Uma característica marcante que influencia a dinâmica dos sistemas de cultivos destas agro-ecorregiões, são as estações chuvosas e secas, que possuem duração relativamente igual. A precipitação anual varia de 800 a 1800 mm, volume de chuvas o qual ocorre mais de 70% na estação chuvosa, correspondente aos meses de novembro a abril (GOMES et al., 2019), com o menor volume de precipitação ocorrendo na agro-ecoregião Nordeste (ALVAREZ et al., 2013).

Os tipos de solos predominantes são Latossolos (em torno de 41%), sendo principalmente Latossolos Vermelhos, Latossolos Amarelos e Latossolos Vermelho-Amarelos

com o terceiro nível categórico classificado principalmente como Distrófico (SANTOS et al., 2011), estes solos classificados conforme o Sistema Brasileiro de Classificação de Solos, são correspondentes a Ferralsols e Hapludox (Oxisols), nas classificações da FAO (WRB) e Americana (Soil Taxonomy), respectivamente (SANTOS et al., 2018). Esses solos são altamente intemperizados e apresentam naturalmente baixos teores de MOS e nutrientes, principalmente N e P (MEDINA, 1993; SANTOS et al., 2018). O relevo é predominantemente plano com áreas de colinas suaves (VALERIANO et al., 2009; GOMES et al., 2019).

Atualmente estas duas agro-ecorregiões são responsáveis por 55% da produção de cereais, leguminosas e oleaginosas (IBGE, 2022). E esta agro-ecorregião é onde está ocorrendo a maior parte do desenvolvimento da produção de grãos do país, a qual passou de 200.000 de ha em 1955, para 40.000.000 de ha em 2005, ou seja, o maior aumento de terras agrícolas do mundo em um período de 50 anos, desde a colonização do Centro-Oeste dos Estados Unidos (EUA) (BUOL, 2009), sendo atualmente uma das maiores áreas cultivadas do mundo (MAIA et al., 2013).

Os principais sistemas de cultivos são constituídos culturas produtoras de grãos, como a soja e milho (ambas podendo ser cultivadas no mesmo ano safra) e culturas de pastagens tropicais, que possuem um elevado aporte radicular, como por exemplo a *Brachiaria* spp. em uso único ou em combinação com milho (MENDES et al., 2018a).

## 2.5. AGRICULTURA DE PRECISÃO E AMBIENTES DE POTENCIAL PRODUTIVO

A agricultura de precisão é uma filosofia de gerenciamento agrícola que possui a premissa de um manejo correto da lavoura, respeitando e digitalizando a variabilidade espacial dos principais fatores que determinam o desempenho das culturas. Por meio de suas ferramentas e tecnologias, objetiva-se otimizar a quantidade de insumos adicionada ao ambiente, bem como o retorno econômico, priorizando a alocação de insumos nos locais com a maior probabilidade de resposta, ou seja, adotando a prática de manejo correta, no lugar correto, no momento correto e de maneira correta (TSCHIEDEL e FERREIRA, 2002; SCHWALBERT et al., 2016; CORASSA, 2018).

Segundo Shafi et al., (2019) com o advento da automação de eventos agrícolas baseada na Internet das Coisas (IoT) o setor agrícola vem mudando de estático e manual para dinâmico e inteligente, proporcionando uma produção aprimorada com esforços humanos reduzidos. A Agricultura de Precisão utiliza sensores e softwares específicos para garantir que as culturas recebam exatamente o que precisam, no intuito de otimizar a produtividade e a sustentabilidade,

incluído a recuperação de dados reais sobre as condições do solo, culturas e clima através de sensores implantados nos campos ou via remota (em plataformas aéreas ou de satélite) onde estes dados são processados para extrair informações que apoiam decisões futuras (SHAFI et al., 2019).

A produtividade varia de acordo com o local da lavoura e a compreensão disso, foi o ponto de partida para o desenvolvimento de sistemas automatizados capazes de monitorar a produtividade (EITELWEIN et al., 2016). A partir da década de 80, através da automatização da operação de sensores embarcados em colhedoras, possibilitou-se produzir mapas da produtividade de grãos, ganhando um enorme apelo comercial na década de 90, sobretudo nos EUA e Europa. A inserção no mercado brasileiro iniciou no fim da década de 90 e se popularizou somente depois dos anos 2000 (EITELWEIN et al., 2016).

Para Eitelwein et al. (2016) o mapa de produtividade continua sendo a melhor ferramenta de apoio para a gestão da propriedade, pois se trata da materialização do resultado de todas as ações de manejo e ambiente impostas à cultura. Este mapeamento se trata da representação gráfica da resposta das plantas às condições de manejo e ambiente submetidas, sendo considerado o resultado que se obteve com as técnicas empregadas (MOORE, 1998; SANTI et al., 2013). Desse modo, uma das principais aplicações dos mapas de produtividade é a investigação das causas que levaram a ocorrência de regiões da lavoura com baixa e alta produtividade. Através dessa análise pode-se planejar estratégias de manejo mais eficientes para os anos seguintes (EITELWEIN et al., 2016).

A partir de um histórico de mapas de produtividade pode-se realizar uma análise de similaridade, delineando os ambientes com produtividade constante (alta, média e baixa) ao longo dos anos, o que pode ser chamado de estabilidade produtiva temporal e a partir disso, definir com zonas de manejo, mas devem ser respeitados os limites e condições de agrupamentos desejados ou adequados (MOLIN, 2002; EITELWEIN et al., 2016).

Para Molin (2002) é necessário haver consistência temporal para a definição correta de unidades de manejo diferenciadas. Portanto, a análise individual de mapas é restritiva e pode não representar, com autoridade, tais ambientes. Desta forma, o uso de vários mapas de produtividade para a definição e consolidação de zonas com distintos potenciais produtivos parece ser a maneira mais eficiente para caracterizar a variabilidade das lavouras (MOLIN, 2002; MILANI et al., 2006; SUSZEK et al., 2011; SANTI et al., 2013).

Uma maneira usual de comparar mapas de diferentes safras e culturas é através da normalização dos valores absolutos de produtividade, ou seja, transformam-se os dados de produtividade em um valor percentual em relação à média da lavoura, e a partir destes se

estabelecem classes de agrupamento (MOLIN, 2002). Mas de maneira geral, a estabilidade produtiva nas áreas não é uma regra, podendo ser variável ao longo dos anos.

As culturas de milho e trigo, de maneira geral, apresentam uma maior similaridade produtiva ao longo dos anos, em relação a soja (EITELWEIN et al., 2016). Outro importante fator que pode alterar as tendências produtivas é o clima, em anos secos a variabilidade produtiva pode se comportar de maneira inversa a de anos úmidos. Em outros casos a variabilidade produtiva é muito pequena e não irá formar agrupamentos para a diferenciação de zonas (EITELWEIN et al., 2016).

A adoção da distinção de ambientes com potenciais produtivos dentro de uma área agrícola, pode ser baseada em atributos do solo e das culturas, como por exemplo o mapeamento de determinados nutrientes e desempenho produtivo das culturas, para realizar determinadas intervenções em sítio específico, correspondendo estas às zonas de manejo (YAN et al., 2007; SANTI et al., 2013).

Ao longo da consolidação da agricultura de precisão observou-se que mesmo após a adubação de correção a taxa variável, uma significativa persistência na variabilidade do desempenho produtivo (SHEPERS et al., 2000; SCHWALBERT et al., 2016). Tal comportamento pode ser explicado, em partes, pela existência de regiões dentro do campo de produção que apresentam características diferentes, de difícil alteração ao longo do tempo (relevo, exposição solar, profundidade de horizontes, textura, capacidade de armazenagem de água, entre outras) e que apresentam diferentes potenciais de produtividade, impossibilitando um desempenho vegetal homogêneo na área (SCHWALBERT et al., 2016).

Além de mapas de colheita, outra abordagem para a delimitação de zonas de manejo consiste em sobrepor informações de propriedades de difícil modificação como relevo e de propriedades do solo como textura, mineralogia, profundidade de horizontes, e a condutividade elétrica, dando-se preferência a informações mapeadas com alta resolução espacial e com baixo custo (SCHWALBERT et al., 2016).

E por fim, a combinação das duas abordagens anteriores com a sobreposição de camadas de informações (*layers*) é outra maneira mais completa em estabelecer zonas de manejo (ORTEGA e SANTIBÁÑEZ, 2007; SCHWALBERT et al., 2016). Com base nas zonas de manejo podem ser aplicadas estratégias de adubação e semeadura em taxa variável; intervenções de manejo; direcionamento de culturas e cultivares/híbridos; experimentos de curva de resposta e colheita seletiva separando grãos de qualidade superior (EITELWEIN et al., 2016; POTT et al., 2019).

## 2.6. ESTATÍSTICA MULTIVARIADA

A análise de variáveis através de métodos estatísticos, pode ser dividida em dois grupos: um que trata da estatística com uma visão das variáveis de maneira isolada, a estatística univariada, e outro que tem uma visão das variáveis de forma conjunta, a estatística multivariada (VICINI et al., 2018). O desenvolvimento tecnológico e o uso de computadores permitiram o advento das técnicas multivariadas, ou seja, de modo contrário não seria possível analisar grande número de variáveis de forma conjunta (HONGYU, 2018).

Os métodos multivariados são escolhidos de acordo com os objetivos da pesquisa, pois a análise multivariada é uma análise exploratória de dados, permitindo a geração de hipóteses a partir de um grande volume de dados e, assim, se tornando muito populares em várias áreas do conhecimento como agronomia, zootecnia, ecologia, florestal, entre outras (HONGYU, 2018; VICINI et al., 2018). Já quando o interesse é verificar como as amostras se relacionam, ou seja, o quanto estas são semelhantes, destacam-se dois métodos: a análise de agrupamento hierárquico (AA) e a análise fatorial (AF) com análise de componentes principais (ACP) (VICINI et al., 2018).

### 2.6.1. Análise de agrupamento hierárquico - AA

A AA, em sua aplicação, engloba uma variedade de técnicas e algoritmos, sendo que o seu objetivo é explorar as similaridades entre indivíduos ou objetos, definindo-os em grupos, considerando, simultaneamente, todas as variáveis observadas em cada indivíduo ou objeto (ARAÚJO et al., 2013). Esta análise estuda todo um conjunto de relações interdependentes, não fazendo distinção entre variáveis dependentes e independentes, isto é, variáveis do tipo causa e efeito, como na regressão (VICINI et al., 2018).

O princípio da AA consiste em que cada observação de uma amostra multivariada corresponda a um ponto em um espaço euclidiano multidimensional, onde os processos de classificação resultam no agrupamento dos pontos em conjuntos que evidenciam aspectos marcantes da amostra (CORRAR et al., 2007; ARAÚJO et al., 2013). O critério que quantifica a distância entre dois objetos é chamado de medida de dissimilaridade, sendo comumente utilizados para este fim a distância euclidiana média, o quadrado da distância euclidiana, a distância ponderada e a distância generalizada de Mahalanobis (SILVA, 2012).

Esta pode ser representada através de um dendograma ou fenograma, representando uma síntese gráfica do trabalho desenvolvido. A sintetização provoca uma pequena perda da

informação, embora isso aconteça, esse gráfico é de grande utilidade para a classificação, comparação e discussão de agrupamentos (VICINI et al., 2018).

### **2.6.2. Análise de componentes principais - ACP**

A ACP consiste em uma técnica multivariada de modelagem da estrutura de covariância (HONGYU et al., 2016). Esta análise tem por objetivo descrever os dados contidos num quadro indivíduos-variáveis numéricas, transformando linearmente um conjunto original de variáveis, inicialmente correlacionadas entre si, num conjunto substancialmente menor de variáveis não correlacionadas que contém a maior parte da informação do conjunto original, não se fazendo uma simples seleção de algumas variáveis, mas sim a construção de novas variáveis sintéticas, obtidas pela combinação linear das variáveis iniciais, por meio dos fatores (HONGYU et al., 2016; VICINI et al., 2018).

A ACP possibilita investigações com um grande número de dados disponíveis, além disso, permite a identificação das medidas responsáveis pelas maiores variações entre os resultados, reduzindo a massa de dados com a menor perda possível de informações (HONGYU et al., 2016; VICINI et al., 2018). Para isso, a ACP transforma um conjunto original de variáveis em outro conjunto: os componentes principais (CP) de dimensões equivalentes (VICINI et al., 2018).

Os CP apresentam propriedades importantes: cada componente principal é uma combinação linear de todas as variáveis originais, são independentes entre si e estimados com o propósito de reter, em ordem de estimação, o máximo de informação, em termos da variação total contida nos dados (JOHNSON e WICHERN, 1998; HONGYU, 2015; HONGYU et al., 2016).

### **2.6.3. Análise fatorial - AF**

A AF possui como objetivo reduzir o número de variáveis iniciais com a menor perda possível de informação, ou seja, esta é aplicada visando à busca de identificação de fatores num conjunto de medidas realizadas. Portanto, a AF possibilita identificar quais variáveis em um conjunto de medidas que poderão ser reunidas num fator, permitindo identificar novas variáveis, em um número reduzido em relação às variáveis iniciais, sem ocorrer uma perda significativa de informação contida nos dados originais (VICINI et al., 2018).

Na primeira etapa da AA se verifica a adequabilidade da base de dados e determina a técnica de extração e o número dos fatores (HONGYU, 2018). Posteriormente, o pesquisador deve seguir para rotação dos fatores, a qual consiste em transformar os fatores provisórios, com o objetivo de se encontrar novos fatores, mais fáceis de serem interpretados (HONGYU, 2018). O método varimax, proposto por Kaiser (1958), é o tipo de rotação de fatores mais bem aceito, quando a variância atinge o máximo, o fator tem maior interpretabilidade ou simplicidade, no sentido de que as cargas deste fator tendem ou à unidade, ou à zero (HAIR et al., 2009; HONGYU, 2018).

Tanto a ACP, quanto a AF, são aplicadas em um conjunto de variáveis para descobrir quais dessas são mais relevantes, na composição de cada fator, sendo estes independentes um dos outros (VICINI et al., 2018). Os fatores, que são gerados, são utilizados de maneira representativa do processo em estudo e utilizados para análises futuras (VICINI et al., 2018).

O objetivo da ACP não é explicar as correlações existentes entre as variáveis, mas encontrar funções matemáticas, entre as variáveis iniciais, que expliquem o máximo possível da variação existente nos dados e permita descrever e reduzir essas variáveis (VICINI et al., 2018). Já a AF explica a estrutura das covariâncias, entre as variáveis, utilizando um modelo estatístico casual e pressupondo a existência de  $p$  variáveis não-observadas e subjacentes aos dados (VICINI et al., 2018). A AF é uma técnica que é aplicada para identificar fatores em um determinado conjunto de medidas realizadas, sendo utilizada, também, como uma ferramenta na tentativa de reduzir um grande conjunto de variáveis para um conjunto mais significativo, representado pelos fatores. Desta maneira, esse método determina quais variáveis pertencem a quais fatores, e o quanto cada variável explica cada fator (VICINI et al., 2018).

### **3. ARTIGO – SOIL HEALTH CHECK-UP OF CONSERVATION AGRICULTURE FARMING SYSTEMS IN BRAZIL<sup>1</sup>**

Artigo oriundo do estudo de mestrado, publicado na revista internacional *Agronomy*, com fator de impacto (FI) 3,417.

<sup>1</sup>Passinato, J.H.; Amado, T.J.C.; Kassam, A.; Acosta, J.A.A.; Amaral, L.P. Soil Health Check-Up of Conservation Agriculture Farming Systems in Brazil. *Agronomy* **2021**, *11*, 2410. <https://doi.org/10.3390/agronomy11122410>



Article

# Soil Health Check-Up of Conservation Agriculture Farming Systems in Brazil

Jardel H. Passinato <sup>1</sup>, Telmo J. C. Amado <sup>1,\*</sup>, Amir Kassam <sup>2,\*</sup>, José A. A. Acosta <sup>3</sup> and Lúcio de P. Amaral <sup>4</sup>

<sup>1</sup> Soil Science Department of Federal University of Santa Maria, 97105-900, Santa Maria, RS, Brazil; jardel.passinato@gmail.com

<sup>2</sup> School of Agriculture, Policy and Development, University of Reading, Whiteknights, P.O. Box 217, Reading RG6 6AH, UK

<sup>3</sup> Drakkar Solos Consultoria, Santa Maria, 97105-330, RS, Brazil; alan@drakkar.com.br

<sup>4</sup> Rural Engineering Department of Federal University of Santa Maria, 97105-900, Santa Maria, RS, Brazil; amaralufsm@gmail.com

\* Correspondence: proftelmoamado@gmail.com (T.J.C.A.); amirkassam786@googlemail.com (A.K.)

**Abstract:** Conservation agriculture has been promoted as the main strategy to regenerate soil life but its effect on soil enzyme activity remains little documented. This study investigated the  $\beta$ -glucosidase and arylsulfatase enzymes as tools to evaluate soil health at the field level. Croplands in four main grain-producing states in Brazil were selected for this study. In each cropland, three environments (high yield (HYE), medium yield (MYE), and low yield (LYE)) were delineated for soil sampling to determine soil chemical attributes and enzyme activity. In one of these fields with a large temporal database, soil DNA characterization was also undertaken. The two soil enzymes investigated were affected by a range of soil attributes and the most important of these were identified. Around 40% of the data points sampled had low soil organic matter content; these were associated with low enzyme activity. Furthermore, in HYE there was more biodiversity and a higher presence of plant-growth promoters, while in LYE there were more plant pathogenic organisms.

**Keywords:** Brazil agro-ecoregions; soil biodiversity; soil enzymes; organic matter

**Citation:** Passinato, J.H.; Amado, T.J.C.; Kassam, A.; Acosta, J.A.A.; Amaral, L.d.P. Soil Health Check-Up of Conservation Agriculture Farming Systems in Brazil. *Agronomy* **2021**, *11*, 2410. <https://doi.org/10.3390/agronomy11122410>

Academic Editor: Yash Dang

Received: 29 September 2021

Accepted: 22 November 2021

Published: 26 November 2021

**Publisher's Note:** MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



**Copyright:** © 2021 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

## 1. Introduction

The projected global population growth over the coming decades will increase the demand for food, fibre, biofuel, energy, water, and other agricultural products. In consequence, there will be growing pressure on natural ecosystems and agroecosystems, which are already facing sustainability challenges due to climate change and increasing soil degradation linked to loss of biodiversity, compromising a range of environmental services and crop productivity at different scales [1]. This scenario highlights the imperative need for the development of more sustainable agricultural systems. A business-as-usual attitude towards agricultural production in most world regions will fail to deliver sustainable production intensification to meet future needs [1,2]. Therefore, there is an urgent need for the redesign of agriculture production systems in order to decrease environmental, economic, and social costs associated with current intensive tillage-based production systems that create bare soils and entail high agrochemical applications [3–5].

Conservation agriculture (CA) has been practiced for more than four decades in the pioneer regions in North and South America [1,6]. Based on the positive results obtained, it has been gradually spreading worldwide to address important shortcomings of 'business-as-usual' tillage agriculture in addressing societal needs and environmental challenges. The three interlinked principles that define CA are: (a) continuously minimizing or avoiding mechanical soil disturbance by tillage of all forms, including no inversion of soil layers, and reducing the rate of crop residue break down and avoiding mixing it into the soil, thus preventing short-term peaks of biological activity associated with flushes of carbon (C) and nitrogen (N) soil inputs and the disruption of soil physical aggregates; (b)

maintaining year-round diverse vegetative biomass mulch cover with living and dead plant material over the soil to protect the soil surface and serve as a continuous and diversified source of substrate for a diverse community of soil microorganisms; and (c) enhancing plant species diversification in the cropping system through crop rotations and associations, including cover crops that would utilize any spare time windows between cash crops, including N-fixing legumes which result in a high quality crop biomass input into the soil, enhancing plant-growth promoting bacteria and fungi [1,3,6,7]. Currently, Brazil has about 43 M ha under CA cropland of varying time durations spread across different agro-ecoregions reflecting the continental dimensions of the country (i.e., the fifth largest territorial country in the world in terms of area) and diverse farming traditions [6]. In consequence, there is a complex interaction of weather, soil, and human (CA management experience) conditions creating a mosaic of production management systems. These range from CA systems in the very early years of transition from tillage agriculture to mature CA systems that were transformed by no-till pioneer farmers several decades ago. The consequences for soil health resulting from this range of CA systems of varying duration are not well documented. This is an important knowledge gap that needs to be filled in order to avoid drawing the wrong or misleading conclusions about soil quality and CA effectiveness. In this sense, bioindicators, such as soil enzyme activity, are management sensitive, and are strongly associated with the living portion of the soil [8]. Thus, soil enzyme activity can serve as an integrated indicator of various key soil attributes, supporting its assessment as part of a holistic and thorough CA evaluation.

Soil health can be defined as the capacity of a specific soil type to function within natural boundaries in order to sustain plant and animal productivity, maintain or enhance water and air quality, support human and animal health, and incorporate biological diversity [4,9,10]. The concept 'conservation effectiveness' encompasses not only the conservation of soil and water, but also enhancement of the soil biotic component that is the basis of sustainability [1]. In an analogous way, 'crop production effectiveness' encompasses not only the maintenance of topsoil chemical nutrient levels above certain critical levels, but also the provision of a welcoming habitat for diverse soil microbiomes that will stimulate nutrient cycling, soil aggregation, water infiltration and retention, and enhance root uptake of water and plant nutrients.

Soil health requires that the main soil functions, such as productivity capacity, environmental protection, and plant and animal health, are well balanced through wise management decisions [11]. In addition, soil health can be understood as a subcomponent of broader ecosystem health. A healthy ecosystem depends on efficient nutrient cycling, a high photosynthesis rate, continuous energy flow, stability, and resilience to stress [12,13]. In this sense, there is a strong link between ecosystem health, soil health, and plant vigour, in which microbial activity, biodiversity, and community stability play an essential role [13]. Therefore, building soil health through farming practices is a primary pathway for ensuring sustainable agriculture. The microbiome living in the rhizosphere is a hot-spot where the microbiota can act as plant growth promoters and plant growth regulators. Alternatively, the microbiota can act as plant pathogens or plant growth detractors, affecting root growth through negative effects on plant nutrient uptake and water use efficiency, and by exacerbation of biotic and abiotic stress events [14,15]. Building a diverse microbiome in the rhizosphere is necessary to suppress or alleviate pressures from plant pathogens, and to decrease disease incidence and its severity, resulting in more vigorous plants with greater resilience to climate change [13,16,17].

Soil physical attributes, particularly soil texture, structure, compaction, bulk density, aggregation, porosity and water availability, and soil chemical attributes, especially hydrogen potential (pH), soil organic matter (SOM), N, plant root exudates, salinity, aluminium ( $Al^{3+}$ ), hydrogen, cation exchange capacity (CEC), and cropping system and weather conditions, drive soil microbial activities and their functional diversity [13]. Microbial activity and diversity are sensitive bioindicators of soil management quality

[3,15]. Therefore, assessment of enzyme activity and of the soil microbiome may provide early insights into the quality of soil management in terms of whether it is improving soil health or promoting degradation before matters are too far advanced [13].

Among many soil enzymes that play an important role in soil and plant health, Mendes et al. [8] proposed  $\beta$ -glucosidase and arylsulfatase enzyme activity as key indicators for understanding the function of soil nutrient cycling, assigning similar weights to these enzymes in relation to their importance to this specific function. These two soil enzymes are gradually being included in routine soil analyses in Brazil [8] because they have been found to be efficient bioindicators in the Brazilian Cerrados (Central-West) soils, acting as warning indicators of soil quality changes associated with the production management practices adopted [15,18]. In addition, Mendes et al. have highlighted that these enzymes are strongly associated with crop yields and SOM content [19], fitting well with the need to define critical limits of key bioindicators [18–20]. The  $\beta$ -glucosidase enzyme plays an important role in the soil C cycle and in nutrients cycling, primarily of N [8]. Arylsulfatase plays a role in the soil sulfur (S) cycle, mediating the transformation of organic S to  $\text{SO}_4^{2-}$ , the form in which it can be taken up by plants. S is an important nutrient in soybean and maize crop nutrition and tropical soils frequently are deficient in its availability to plants [8,21].

The main hypothesis of this study is that crop performance in different yield environments is strongly associated with soil biological activity which can be positively or negatively affected according to a complex interaction involving the soil management system adopted, the soil type, and the weather. A knowledge of this interaction would create opportunities to boost soil life and crop yield.

In this study, we sought to advance knowledge concerning the relationship between varying yield environments (YEs) within production fields and  $\beta$ -glucosidase and arylsulfatase enzyme activity. We also wanted to understand the main soil attributes that affect enzyme activity in the main Brazilian agro-ecoregions. Finally, we wanted to study the presence of plant-growth-promoting organisms and plant pathogenic organisms in the varying YEs. These issues are still only barely covered in the CA literature but knowledge about them would create the opportunity for farmers to apply site-specific soil management to build and sustain soil life and plant health.

The main objective of this study was to assess soil health, through the activity of two enzymes as bioindicators, in long-term CA croplands in the main Brazilian agro-ecoregions. Moreover, in one field for which there was a large temporal data set on crop yield, soil DNA characterization was undertaken to capture microbiome relationship with different crop YEs within field.

## 2. Materials and Methods

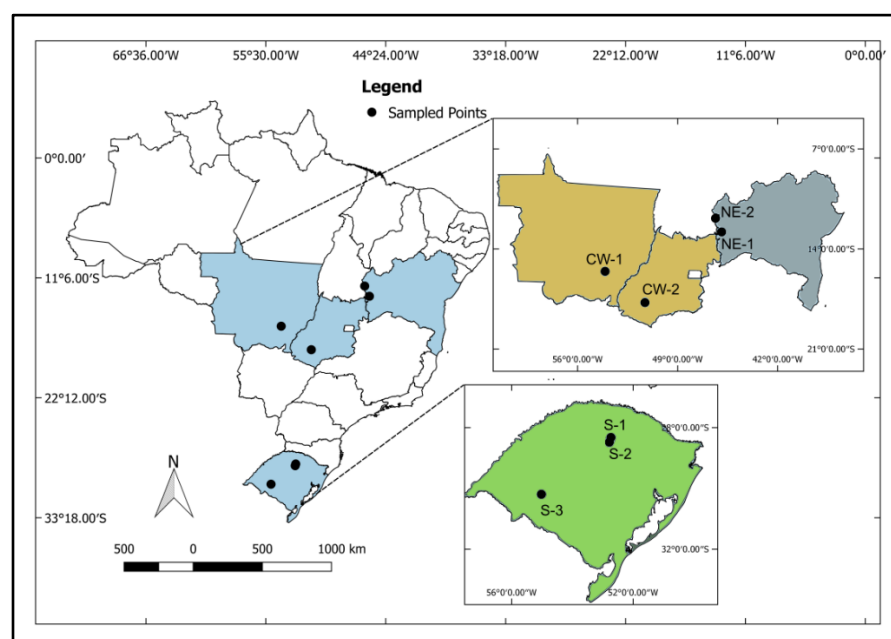
### 2.1. Agro-Ecoregions, Croplands and Within-Field Yield Environments

This study was carried out in seven grain production fields distributed in four states that have been continuously managed under CA over the past 10 to 20 years. These fields were selected because they offered crop yield records kept by the Aquarius Project team (<https://www.facebook.com/projetoaquariusufsm/>, accessed on 20 October 2021) which were representative of farming systems currently adopted in their agro-ecoregion. In general, the fields had soybean yields above the national average ( $3.5 \text{ Mg ha}^{-1}$  in 2020/21), with one field (S-1) holding a national record for soybean and maize yields (<https://thefurrow.co.uk/brazilian-farmers-aim-for-sustainability/>, accessed on 24 October 2021).

The selected fields were in the main agro-ecoregions of Brazil which are: South, Central-West ('Cerrado') and Northeast (Figure 1 and Table 1) which have a range of soil textures. The soil type is Hapludox, except in field S-3 which is Paleudalf according to Soil Taxonomy classification. In each field, three within-field YEs were delineated based on crop yield records and satellite images (NDVI) according to the available farm data. The HYE was classified as >110% average crop yield in the field, the MYE as 80–110%, and the LYE as <80%. The criteria to define YEs in the study has been extensively used in

precision agriculture literature [22–25]. In our study, all the previous crop yield data within each field were relativized so that the year and crop grown were taken account of in the study. For example, the maize yield was relativized in relation to the highest maize yield obtained in the field in that specific year taking account of the spatial variability captured through the grain yield sensor fitted in the combine harvester.

The same was undertaken for soybean in order to capture the spatial variability in crop performance. Previous studies by the Aquarius Project team have shown that the maize yield map had closer relationships with soil attributes than the soybean yield map, justifying its use in YEs delineation when available. The LYE in each field served as a reference management level that needs to be improved. The HYE in each field and in the whole set of fields served as a reference level of efficient management that needs to be understood in terms of soil attributes that minimize the crop yield limiting factors.



**Figure 1.** Geographical distribution of the fields sampled in the main agro-ecoregions of Brazil. Agro-ecoregions with different colors: green color = South (fields S-1 = Carazinho, S-2 = Não-Me-Toque and S-3 = Rosário do Sul, in Rio Grande do Sul state); orange color = Central-West (fields CW-1 = Primavera do Leste, in Mato Grosso state and CW-2 = Rio Verde, in Goiás state); gray color = Northeast (fields NE-1 = Luís Eduardo Magalhães and NE-2 = Luís Eduardo Magalhães, in Bahia state).

**Table 1.** Field locations, areas, average annual temperature (T), annual accumulated precipitation (P), average altitude (E) and soil texture and classification.

Field	Localization (City-State)	Area (ha)	T (°C)	P (mm y <sup>-1</sup> )	E (m)	Soil Texture <sup>1</sup>	U.S Soil Taxomy <sup>1</sup>
S-1	Carazinho-RS	60.1	18.3	1856	565	Clay loam	Typic Hapludox
S-2	Não-Me-Toque-RS	136.0	19.0	1771	500	Clay loam	Typic Hapludox
S-3	Rosário do Sul-RS	25.0	19.5	1493	155	Sandy loam	Paleudalf
CW-1	Primavera do Leste-MT	348.8	24.0	1471	650	Sandy clay loam	Hapludox
CW-2	Rio Verde-GO	509.8	23.1	1294	875	Clay loam	Hapludox
NE-1	Luís Eduardo Magalhães-BA	1376.1	23.6	881	830	Sandy clay loam	Hapludox
NE-2	Luís Eduardo Magalhães-BA	690.9	25.0	1089	880	Sandy clay loam	Hapludox

<sup>1</sup> Soil texture classified according to Soil Survey Staff (2014) [26]; Meteorological data extracted from the database of nearest INMET weather automatic stations, corresponding to the years 2018, 2019, and 2020. RS = Rio Grande do Sul; MT = Mato Grosso; GO = Goiás; BA = Bahia. S = South; CW = Central-West; NE = Northeast.

## 2.2. Sampling Strategies for Soil Enzyme, Physicochemical Soil Analysis, Soil DNA Characterization and Crop Yield

In each of three YEs, three random samples were collected in the seven fields selected, totaling 63 georeferenced sampling points. The soil was collected at 0–0.10 m depth. Soil samples for enzyme activity analysis were collected 40 days after crop emergence (soybean at flowering stage) using a manual shovel. Seven subsamples were used to obtain one composite soil sample following the scheme: one in the center of crop row and three on each side of the row. After sieving (<2 mm) and removing crop residues, the soil samples were air dried following the methodology proposed by Mendes et al. [8,18]. The  $\beta$ -glucosidase and arylsulfatase enzymes activity laboratory analysis followed the methodology of Tabatabai [27].

The chemical analyses were soil pH in water (1:1), potassium ( $K^+$ ) and phosphorus (P) extracted with Mehlich-I solution. The  $K^+$  content was determined by flame photometry and the P content by colorimetry, using molybdenum blue [28]. Calcium ( $Ca^{2+}$ ), magnesium ( $Mg^{2+}$ ), manganese ( $Mn^{2+}$ ), and  $Al^{3+}$  were extracted using 1.0 mol L<sup>-1</sup> KCl solution [29]. Copper ( $Cu^{2+}$ ) and zinc ( $Zn^{2+}$ ) were extracted using HCl 0.1 mol L<sup>-1</sup> [29].  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ , and  $Mn^{2+}$  were determined by atomic absorption spectrophotometry. The  $Al^{3+}$  was titrated with NaOH 0.025 mol L<sup>-1</sup>. S was extracted by Ca phosphate solution and determined in BaCl<sub>2</sub> gelatine solution. Boron (B) was extracted by digestion and determined by colorimetry. The CEC at pH 7 was determined by the sum of the exchangeable bases ( $K^+$ ,  $Ca^{2+}$ , and  $Mg^{2+}$ ) plus potential acidity ( $H^+$  +  $Al^{3+}$ ) according to Tedesco et al. [29]. The soil texture was determined by pipette method according to Teixeira et al. [30].

The SOM content was determined by adapting the Walkley–Black method with oxidation by sulfochromic solution with external heat and  $Cr^{3+}$  content by spectrophotometry [29]. The total soil organic C and total N (TOC and TN) concentrations were determined by dynamic flash combustion through elemental analysis (Thermo Fisher Scientific—FlashEA® 1112, Waltham, MA, USA, detection limit = 0.01%). For this, approximately 50 mg of soil, that had been oven-dried (60 °C, 72 h) and finely macerated, was weighed with a scale with 0.001 mg precision and prepared for dry combustion at 975 °C. The TOC and TN stocks were figure out taking account the bulk density of each soil.

The production fields selected for this study had records of soybean and maize yields from previous seasons that allowed the delineation of YEs. During the 2020/21 season the grain yield was determined by manual harvesting of 1 m<sup>2</sup> in three replicates. The weather data were obtained from the nearby weather station of the National Institute of Meteorology (INMET). The normalized differences in vegetation index (NDVI) for soybean were determined keeping the soil enzyme sampling as central points, using the Atfarm® platform (Yara Ltda, Oslo, Norway). The satellite images were selected at soybean flowering stage and classified using an index according to a scale ranging from 0.0 to 1.0.

One of the fields of the Aquarius Project (S-2) that had a large available data set, obtained over a period of 20 years, was selected for soil DNA characterization. The soil texture was clayey, kaolinitic, and classified as a Rhodic Hapludox [26]. This cropland field has been managed under CA management since 2002; more details can be found in Pott et al. [23]. In the growing season of 2019/2020 composite soil samples, following the same methodology previously described, were collected in the HYE, MYE and LYE at 0–0.10 m depth, and sent to Biome Markers® (<https://biomemakers.com>, accessed on 20 October 2021), in the United States (USA) for molecular analysis of the microbiota. The DNA extraction was performed with the DNeasy 420 PowerLyzer PowerSoil Kit from Qiagen [31]. In order to characterize bacterial and fungal microbial communities associated with the soil samples, the 16S rRNA and ITS marker regions were selected. Libraries were prepared following the two-step PCR Illumina protocol using custom primers amplifying the 16S rRNA V4 region and the ITS1 region as described previously [31]. The DNA sequencing was conducted in an Illumina MiSeq instrument using pair-

end sequencing ( $2 \times 300$  bp). The platform BeCrop® (West Sacramento, CA, USA) was used in this study, and more details can be found in Imam et al. [31].

In this field the soil penetration resistance in the 0–0.40 m soil depth was determined using a digital penetrometer PLG PenetroLOG 2040 (Falker®, Porto Alegre, Brazil) with 0.01 m depth accuracy. The penetrometer readings were performed at the flowering soybean stage when the soil was close to field capacity with gravimetric soil moisture sampling at 0–0.10, 0.10–0.20, 0.20–0.30, and 0.30–0.40 m [30]. The apparent soil electrical conductivity (EC) was determined close to soil sampling points at 0–0.30 m with VERIS CE® (VERIS Technologies, Salina, KS, USA). The soil macroporosity data from topsoil were obtained from Pott et al. [23].

### 2.3. Statistical Analysis

The enzyme activity and chemical analysis were submitted to variance analysis ( $p < 0.01$  and  $p < 0.05$ ) and Pearson's correlation. In the fields that had soybean grown in the 2020/21 season (54 soil-sampling points), a principal component analysis (PCA) was performed to determine the drivers of soybean yield and enzyme activity and factor analysis was used to better define the original variables that most contributed to the formation of the main components and factors, using the varimax normalized rotation. Additionally, cluster analysis was performed to determine the differences and similarities between agro-ecoregions, fields, and their YEs, using Ward's method for amalgamation (linkage) rule and square Euclidean distances as a measure of similarity. In order to group variables and cases in dendrograms and correlate them with the scatter plot of variables produced in the factorial analysis [32,33], Statistica 12® software was used. The relationships of enzyme activity with soil attributes and biota diversity (number of species identified in the samples) were investigated by linear and quadratic adjustments. The enzyme activity and SOM in each YEs within field was compared by Tukey test ( $p < 0.05$ ). The Tukey test and all relationships used the R Studio® statistical package.

## 3. Results and Discussion

### 3.1. Characterization of Soil Attributes, Crop Yield and Enzyme Activity by Yield Environments in Selected Fields

The chemical soil analysis of seven fields selected for this study is presented in Tables 2 and 3. The chemical attributes reflect the farmer's and consultant's management in each agro-ecoregion. Remarkable differences in soil texture ranging from 14% to 39.7% of clay content and 16.7% to 78.1% of sand content were observed (Table 3).

**Table 2.** Soil contents of phosphorus (P), potassium (K<sup>+</sup>), sulphur (S), aluminium (Al<sup>3+</sup>), calcium (Ca<sup>2+</sup>) magnesium (Mg<sup>2+</sup>), cation exchange capacity (CEC), Ca<sup>2+</sup>/Mg<sup>2+</sup> ratio, and base saturation (BS) at 0–0.10 m depth in varying yield potential environments (YE) in seven fields managed under conservation agriculture in main Brazilian agro-ecoregions.

Field	YE	P	K <sup>+</sup>	S	Al <sup>3+</sup>	Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	CEC	Ca <sup>2+</sup> /Mg <sup>2+</sup>	BS
		(mg dm <sup>-3</sup> )			(cmolc dm <sup>-3</sup> )					(%)
S-1	H	35.5±8.3	308.3±35.8	28.2±15.4	0.0±0.0	6.9±2.0	3.2±0.8	13.5±2.7	2.2±0.1	79.9±3.3
	M	39.1±8.5	327.3±59.0	14.7±2.8	0.0±0.0	5.7±1.2	2.3±0.4	11.2±1.9	2.5±0.4	79.0±0.5
	L	56.8±13.2	205.3±48.6	11.6±0.4	0.0±0.0	4.7±0.9	1.9±0.5	9.2±1.6	2.4±0.1	78.0±1.5
S-2	H	41.3±5.9	385.3±66.4	6.7±1.4	0.0±0.0	5.8±1.3	1.9±0.3	11.5±1.7	3.0±1.0	75.9±5.5
	M	37.4±4.1	293.3±19.9	8.1±0.7	0.0±0.0	5.5±0.5	1.5±0.2	11.3±0.3	3.6±0.3	69.0±5.5
	L	53.2±37.8	283.7±22.0	9.5±0.4	0.0±0.0	5.4±1.2	1.8±0.4	11.4±0.7	3.0±0.3	69.3±5.0
S-3	H	61.3±5.9	236.3±3.8	7.9±3.1	0.0±0.0	9.9±2.5	3.1±0.6	16.2±3.3	3.2±0.0	83.7±2.3
	M	35.8±0.6	125.7±2.3	5.9±0.8	0.0±0.0	8.0±1.3	2.9±0.4	12.7±1.7	2.8±0.1	88.4±1.2
	L	76.7±3.9	246.3±9.1	17.5±4.5	0.0±0.0	3.6±0.2	1.4±0.1	6.8±0.3	2.5±0.0	82.1±0.5
CW-1	H	24.2±7.5	160.3±30.1	18.6±2.9	0.0±0.0	3.3±0.1	1.4±0.1	8.0±0.4	2.3±0.1	65.4±5.2
	M	22.1±7.9	149.0±12.8	16.2±10.4	0.0±0.0	4.0±0.5	1.7±0.3	8.4±0.4	2.3±0.3	72.0±6.8
	L	18.4±9.6	140.0±12.8	13.1±3.4	0.0±0.0	3.9±0.3	1.8±0.3	8.3±0.6	2.2±0.4	73.2±6.6

Table 2. Cont.

Field	YE	P	K <sup>+</sup>	S	Al <sup>3+</sup>	Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	CEC	Ca <sup>2+</sup> /Mg <sup>2+</sup>	BS
		(mg dm <sup>-3</sup> )			(cmolc dm <sup>-3</sup> )					(%)
CW-2	H	21.1±9.6	135.0±48.6	32.4±16.4	0.0±0.0	5.2±1.7	1.2±0.3	9.7±1.9	4.5±0.4	68.6±8.2
	M	19.3±5.7	142.0±18.4	33.2±16.1	0.0±0.0	5.0±1.2	1.2±0.3	9.9±1.6	4.1±0.1	66.4±6.0
	L	16.2±8.2	178.3±55.5	59.1±18.5	0.0±0.0	5.7±1.1	1.4±0.3	10.0±0.9	4.0±0.5	74.9±5.3
NE-1	H	28.7±6.4	88.3±8.3	8.9±0.7	0.0±0.0	2.7±0.8	1.2±0.4	5.2±1.0	2.3±0.1	78.8±6.7
	M	40.4±15.5	60.3±5.1	8.1±0.6	0.0±0.0	3.0±0.7	1.2±0.2	5.5±0.8	2.4±0.2	79.2±2.4
	L	45.4±10.7	87.3±23.7	7.9±1.6	0.0±0.0	2.7±0.5	1.1±0.3	5.1±0.8	2.5±0.2	77.6±5.1
NE-2	H	48.4±8.5	148.0±34.0	36.6±7.6	0.0±0.0	3.2±0.6	0.9±0.3	5.6±0.9	3.7±0.2	79.2±4.6
	M	62.5±16.7	157.3±38.8	65.6±37.8	0.0±0.0	2.8±0.2	0.6±0.2	4.9±0.4	4.7±0.3	77.9±2.1
	L	54.3±25.0	147.3±54.6	39.6±15.7	0.0±0.0	2.4±0.6	0.5±0.2	4.3±1.0	4.7±0.3	74.0±5.1

S = South (fields S-1 = Carazinho, S-2 = Não-Me-Toque and S-3 = Rosário do Sul, in Rio Grande do Sul State); CW = Central-West (fields CW-1 = Primavera do Leste, in Mato Grosso State and CW-2 = Rio Verde, in Goiás State); NE = Northeast (fields NE-1 = Luis Eduardo Magalhães and NE-2 = Luís Eduardo Magalhães, in Bahia State). H = high yield environment; M = medium yield environment; L = low yield environment. ± = corresponds to the standard deviation.

**Table 3.** Soil texture, pH in water, potential acidity (H + Al<sup>3+</sup>), and micronutrients, zinc (Zn<sup>2+</sup>), copper (Cu<sup>2+</sup>), boron (B) e manganese (Mn<sup>2+</sup>) at 0–0.10 m depth in varying yield potential environments (YE) within fields under conservation agriculture in main Brazilian agro-ecoregions.

Field	YE	pH	H + Al <sup>3+</sup>	Sand	Silt	Clay	Zn <sup>2+</sup>	Cu <sup>2+</sup>	B	Mn <sup>2+</sup>
			(cmolc dm <sup>-3</sup> )	(%)			(mg dm <sup>-3</sup> )			
S-1	H	6.1±0.1	2.7±0.2	43.2±5.2	18.5±4.1	38.3±1.2	4.3±0.8	3.4±0.5	0.8±0.1	7.0±1.0
	M	6.3±0.3	2.3±0.4	41.7±1.0	23.3±1.2	35.0±2.0	4.5±0.7	3.1±0.2	0.6±0.1	3.3±2.1
	L	6.5±0.1	2.0±0.3	49.7±15.1	22.3±19.0	28.0±5.0	5.5±1.4	2.4±0.1	0.7±0.0	2.3±0.6
S-2	H	6.2±0.2	2.7±0.6	36.7±4.4	25.7±4.7	37.7±0.6	3.7±0.7	2.5±0.4	0.5±0.1	7.0±3.5
	M	6.0±0.2	3.5±0.7	41.5±4.5	19.2±1.8	39.3±3.5	4.1±1.3	3.0±0.9	0.4±0.0	9.7±2.9
	L	5.9±0.3	3.5±0.5	41.6±11.6	18.7±3.7	39.7±10.2	3.3±0.6	2.5±1.0	0.4±0.1	7.3±2.1
S-3	H	6.0±0.0	2.6±0.1	61.9±1.1	18.1±2.8	20.0±1.7	1.4±0.3	0.3±0.0	0.4±0.1	3.7±1.2
	M	6.6±0.1	1.4±0.1	48.4±1.9	33.3±1.1	18.3±1.2	1.1±0.0	0.6±0.0	0.4±0.1	1.7±0.6
	L	6.4±0.0	1.2±0.0	78.1±0.4	7.9±1.4	14.0±1.0	4.2±0.3	0.8±0.1	0.4±0.0	5.3±0.6
CW-1	H	6.2±0.4	2.8±0.6	51.9±2.4	18.7±3.0	29.3±3.1	3.5±0.7	0.8±0.1	0.6±0.2	1.3±0.6
	M	6.5±0.3	2.3±0.6	53.1±3.6	20.9±1.2	26.0±3.0	3.8±0.8	0.9±0.2	0.7±0.2	1.0±0.0
	L	6.6±0.3	2.2±0.7	50.8±1.6	21.2±1.3	28.0±2.6	3.2±0.6	0.8±0.2	0.5±0.1	1.3±0.6
CW-2	H	6.2±0.3	3.0±0.3	27.0±2.4	45.3±6.2	27.7±3.8	7.5±0.9	1.3±0.2	0.7±0.1	1.3±0.6
	M	6.0±0.2	3.3±0.3	23.8±7.2	48.5±10.1	27.7±3.8	10.1±6.6	1.5±0.6	0.6±0.1	2.0±0.0
	L	6.2±0.3	2.5±0.3	16.7±2.6	50.3±3.1	33.0±3.6	2.7±0.8	0.9±0.2	0.7±0.1	1.0±0.0
NE-1	H	7.0±0.5	1.1±0.2	63.9±0.5	10.1±2.1	26.0±1.7	4.0±0.9	1.2±0.7	0.5±0.1	1.0±0.0
	M	6.9±0.1	1.1±0.1	65.9±3.2	9.1±5.1	25.0±2.0	6.2±3.0	1.6±0.6	0.4±0.1	1.0±0.0
	L	7.0±0.2	1.1±0.1	58.3±4.6	12.4±3.6	29.3±4.0	2.7±1.0	0.7±0.3	0.4±0.0	1.0±0.0
NE-2	H	6.5±0.3	1.1±0.3	69.5±3.0	8.5±3.0	22.0±4.4	8.4±0.2	2.3±0.5	0.4±0.0	2.7±2.9
	M	6.7±0.2	1.1±0.2	71.2±4.0	5.4±1.7	23.3±4.0	8.0±0.8	2.1±0.4	0.4±0.1	1.0±0.0
	L	6.6±0.1	1.1±0.0	70.5±0.4	5.8±0.8	23.7±1.2	8.1±3.5	2.2±0.4	0.4±0.1	1.0±0.0

S = South (fields S-1 = Carazinho, S-2 = Não-Me-Toque and S-3 = Rosário do Sul, in Rio Grande do Sul State); CW = Central West (fields CW-1 = Primavera do Leste, in Mato Grosso State and CW-2 = Rio Verde, in Goiás State); NE = Northeast (fields NE-1 = Luis Eduardo Magalhães and NE-2 = Luís Eduardo Magalhães, in Bahia State). H = high yield environment; M = medium yield environment; L = low yield environment. ± = corresponds to the standard deviation.

The soybean and corn yield (NE-2), NDVI,  $\beta$ -glucosidase and arylsulfatase soil enzymes activity, TN, TOC and SOM are shown in Table 4. The SOM had a large range of 1.4% to 4.2%, and so as did TOC and TN. These results were associated with cropping systems, soil texture, and climate of different agro-ecoregions. The  $\beta$ -glucosidase ranged from 90.8 to 256.0 mg p-nitrophenol kg<sup>-1</sup> soil h<sup>-1</sup> and arylsulfatase from 32.3 to 287.3 mg p-nitrophenol kg<sup>-1</sup> soil h<sup>-1</sup>. This broad range provided us with the opportunity to explore the relationships of soil attributes, crop yield, and enzyme activity (Table 4).

**Table 4.** Soybean and corn\* grain yield near soil and enzyme sampling, normalized difference vegetation index (NDVI),  $\beta$ -glucosidase e arylsulfatase soil enzyme activity, soil organic matter (SOM), total soil organic carbon (TOC), total nitrogen (TN) and carbon/nitrogen ratio (C/N), and at 0–0.10 m depth in varying yield potential environments (YE) in same field managed under conservation agriculture in main Brazilian agro-ecoregions.

Field	YE	Crop Yield	NDVI	$\beta$ -glucosidase	Arylsulfatase	SOM <sup>1</sup>	TOC <sup>2</sup>	TN <sup>2</sup>	C/N
		(kg ha <sup>-1</sup> )		(mg p-nitrophenol kg <sup>-1</sup> soil h <sup>-1</sup> )		(%)	(Mg ha <sup>-1</sup> )		
S-1	H	5532 ± 1210	0.90 ± 0.02	209.8 ± 25.5	287.3 ± 8.1	3.2 ± 0.12	27.6 ± 1.97	2.36 ± 0.15	11.7 ± 0.23
	M	4514 ± 287	0.73 ± 0.05	180.0 ± 23.7	259.5 ± 2.4	2.8 ± 0.38	23.8 ± 1.83	2.06 ± 0.17	11.6 ± 0.17
	L	4582 ± 288	0.43 ± 0.10	205.2 ± 7.8	235.9 ± 2.7	2.7 ± 0.06	19.8 ± 1.15	1.71 ± 0.10	11.5 ± 0.26
S-2	H	6120 ± 106	0.88 ± 0.03	210.5 ± 18.3	253.5 ± 17.1	3.3 ± 0.00	26.5 ± 1.60	2.25 ± 0.16	11.8 ± 0.15
	M	5686 ± 733	0.74 ± 0.04	198.3 ± 27.3	240.4 ± 47.8	3.2 ± 0.32	26.7 ± 1.67	2.27 ± 0.29	11.8 ± 0.73
	L	5144 ± 268	0.31 ± 0.06	215.4 ± 10.8	249.8 ± 53.5	3.1 ± 0.25	25.4 ± 1.65	2.08 ± 0.18	12.2 ± 0.44
S-3	H	4530 ± 570	0.77 ± 0.08	213.0 ± 12.0	255.7 ± 54.8	2.7 ± 0.00	23.5 ± 0.42	2.14 ± 0.08	11.0 ± 0.37
	M	3620 ± 151	0.55 ± 0.05	183.0 ± 4.3	222.5 ± 19.8	2.3 ± 0.06	20.8 ± 0.98	1.73 ± 0.04	12.0 ± 0.27
	L	3600 ± 60	0.38 ± 0.02	119.4 ± 5.9	78.6 ± 8.6	1.7 ± 0.00	15.1 ± 1.88	1.52 ± 0.18	9.9 ± 0.13
CW-1	H	3629 ± 158	0.69 ± 0.12	162.1 ± 16.6	91.8 ± 6.2	3.3 ± 0.06	27.7 ± 1.65	1.90 ± 0.15	14.6 ± 0.28
	M	3627 ± 289	0.59 ± 0.12	136.7 ± 27.5	70.6 ± 6.7	3.1 ± 0.26	24.6 ± 1.96	1.75 ± 0.15	14.1 ± 0.11
	L	3932 ± 159	0.17 ± 0.08	130.0 ± 20.3	68.1 ± 7.8	3.1 ± 0.44	27.2 ± 1.37	1.87 ± 0.13	14.6 ± 0.40
CW-2	H	4711 ± 197	0.79 ± 0.13	207.4 ± 6.2	160.2 ± 12.2	3.9 ± 0.40	36.3 ± 5.13	2.66 ± 0.48	13.7 ± 0.63
	M	4496 ± 360	0.55 ± 0.19	233.0 ± 29.5	199.3 ± 47.6	3.8 ± 0.12	35.3 ± 4.82	2.63 ± 0.39	13.4 ± 0.20
	L	4032 ± 393	0.28 ± 0.08	256.0 ± 12.9	232.7 ± 10.6	4.2 ± 0.47	36.9 ± 4.05	2.74 ± 0.37	13.5 ± 0.33
NE-1	H	5443 ± 193	0.87 ± 0.15	157.1 ± 1.2	49.4 ± 13.1	1.3 ± 0.10	12.1 ± 0.95	1.01 ± 0.14	12.1 ± 0.80
	M	4956 ± 283	0.80 ± 0.18	140.4 ± 36.6	48.3 ± 12.9	1.7 ± 0.21	13.6 ± 2.20	1.10 ± 0.30	12.6 ± 1.56
	L	5042 ± 416	0.41 ± 0.04	112.8 ± 13.5	32.6 ± 6.8	1.5 ± 0.23	13.1 ± 3.83	0.85 ± 0.22	15.3 ± 0.73
NE-2*	H	11,333 ± 885	0.80 ± 0.03	133.3 ± 24.4	28.2 ± 3.3	1.5 ± 0.15	11.7 ± 2.45	0.89 ± 0.20	13.3 ± 0.79
	M	12,442 ± 282	0.74 ± 0.03	121.8 ± 18.5	38.2 ± 12.3	1.4 ± 0.26	11.0 ± 3.27	0.80 ± 0.22	13.6 ± 0.50
	L	12,827 ± 558	0.53 ± 0.06	90.8 ± 11.4	32.3 ± 4.9	1.4 ± 0.29	12.9 ± 2.50	0.94 ± 0.23	13.9 ± 0.78

\* Field cultivated with maize. S = South (fields S-1= Carazinho, S-2 = Não-Me-Toque and S-3 = Rosário do Sul, in Rio Grande do Sul State); CW = Central-West (fields CW-1 = Primavera do Leste, in Mato Grosso State and CW-2 = Rio Verde, in Goiás State); NE = Northeast (fields NE-1 = Luis Eduardo Magalhães and NE-2 = Luís Eduardo Magalhães, in Bahia State). H = high potential yield environment; M = medium potential yield environment; L = low potential yield environment. <sup>1</sup> SOM determined by wet oxidation through the Walkley–Black adapted method [29]; <sup>2</sup> TOC and TN determined by dry combustion method. ± = corresponds to the standard deviation.

### 3.2. Soil Attributes by Fields in Agro-Ecoregion and Relationship with Soil Enzyme Activity

According to agro-ecoregion, the soil attributes showed differences that were related to soil type and soil fertility management (Table 2). Soil texture affected soil enzyme activity in the South and Central-West agro-ecoregions but not in the Northeast (Table 5). In general, in the South and Central-West agro-ecoregions the increase of sand content was associated, as expected, with a decrease in enzyme activity. On the other hand, in the Northeast, where the soils had high sandy content and there was a narrow range in soil texture (Table 3), it was not observed. Soil texture influenced structure, CEC, SOM content, soil temperature, and water holding capacity that affect the biological activity in soil. Typically, clay soils are expected to have higher microbial biomass and enzyme activity than sandy soils under similar weather and management conditions.

Ji et al. [34] reported that the actinomyces and fungi population in clay soil was 151% and 43% higher than in loam soil. The authors linked this result to fine clay particles that hold higher water content and SOM than sand and silt particles. Elliot et al. and Alvarez et al. [35,36] have highlighted the protective effect of clay on the microbiome. In our study the clay content had a relationship with  $\beta$ -glucosidase in the South fields, and with arylsulfatase in the South and Central-West fields (Table 5).



**Table 5.** Pearson's correlation of  $\beta$ -glucosidase and arylsulfatase with soil organic matter (SOM), total nitrogen (TN), soil texture, cation exchange capacity (CEC), and calcium content ( $\text{Ca}^{2+}$ ) in fields in ecoregions.

	Fields in Agro-Ecoregion	SOM <sup>1</sup> (%)	TN <sup>2</sup> (Mg ha <sup>-1</sup> )	Sand	Silt (%)	Clay	CEC	Ca <sup>2+</sup> (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )
$\beta$ -glucosidase (mg p-nitrophenol kg <sup>-1</sup> soil h <sup>-1</sup> )	South	0.78 **	0.72 **	-0.61 **	0.39 *	0.48 *	0.49 *	0.35 ns
	Central-West	0.83 **	0.80 **	-0.91 **	0.85 **	0.43 ns	0.58 *	0.56 *
	Northeast	0.67 **	0.36 ns	-0.07 ns	0.24 ns	-0.13 ns	0.31 ns	0.20 ns
	Average	0.77 **	0.81 **	-0.76 **	0.70 **	0.41 **	0.67 **	0.59 **
Arylsulfatase (mg p-nitrophenol kg <sup>-1</sup> soil h <sup>-1</sup> )	South	0.79 **	0.70 **	-0.72 **	0.35 ns	0.67 **	0.55 **	0.38 ns
	Central-West	0.80 **	0.74 **	-0.89 **	0.82 **	0.47 *	0.51 *	0.53 *
	Northeast	-0.13 ns	0.19 ns	-0.08 ns	-0.06 ns	0.18 ns	-0.14 ns	-0.18 ns
	Average	0.65 **	0.73 **	-0.64 **	0.49 **	0.53 **	0.82 **	0.72 **
SOM	South	-	0.89 **	-0.78 **	0.24 ns	0.84 **	0.37 ns	0.13 ns
	Central-West	-	0.92 **	-0.83 **	0.81 **	0.26 ns	0.72 **	0.75 **
	Northeast	-	0.61 **	-0.29 ns	0.30 ns	0.13 ns	0.54 *	0.38 ns
	Average	-	0.95 **	-0.86 **	0.78 **	0.49 **	0.61 **	0.46 **

<sup>1</sup> SOM determined by wet oxidation through the Walkley-Black adapted method [29]; <sup>2</sup> TN determined by automated dry combustion method. Significance codes: \*\*  $p < 0.01$ ; \*  $p < 0.05$ ; ns = not significant;  $n = 63$ .

The CEC had a positive effect on enzyme activity in the South and Central-West fields. In tropical soils, the CEC is dependent on clay mineralogy and is mainly of SOM content. Soares et al. and Bayer et al. [37,38] reported that Oxisols, which are highly weathered, had around 80% of their CEC associated with SOM content. The interaction between SOM and clay minerals (i.e., organomineral complexes) increases soil aggregation and physically protects SOM from microbial degradation. Ferreira et al. and Xu et al. [39,40] reported that CEC and base saturation (BS) were drivers of SOM content in tropical CA soils. These results indicate that nutrient management plays an important role in SOM restoration in dystrophic tropical Oxisols.

In our study, the  $\text{Ca}^{2+}$  content had a positive relationship with enzyme activity in the Central-West fields (Table 5). In addition, averaged across all fields,  $\text{Ca}^{2+}$  had relationships with  $\beta$ -glucosidase and arylsulfatase enzyme activity of 0.59 and 0.72 ( $p < 0.01$ ), respectively (Table 4). In the South and Central-West fields, there was no significant relationship with  $\text{Ca}^{2+}$  content. This result could be explained as follows: In the Central-West fields the  $\text{Ca}^{2+}$  content was in the range 3.3 to 5.7 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>. In this range crop yield has a high probability of increasing with further  $\text{Ca}^{2+}$  input. In the South fields most of the  $\text{Ca}^{2+}$  content values were already higher than 5.5 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>, so that the probability for crop yield to increase with further input of  $\text{Ca}^{2+}$  is low. On the other hand, in the Northeast region fields most of the  $\text{Ca}^{2+}$  content values were low, in a narrow range from 2.4 to 3.2 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>, that could explain the lack of a clear relationship (Table 2). Previously, Pires et al. [7] reported that  $\text{Ca}^{2+}$  was a driver of  $\beta$ -glucosidase in a South CA long-term experiment.  $\text{Ca}^{2+}$  serves as a constituent of plant cell walls and membranes and can act as a physical barrier against pathogens [41]. It is assumed that a healthy plant provides higher amounts of exudates to feed the soil biota. In addition,  $\text{Ca}^{2+}$  increases root growth, mainly of the finer roots that are very active in providing exudates to the microbial rhizosphere community. Finally,  $\text{Ca}^{2+}$  is important for soil aggregation and SOM stabilization under CA [39] and the increase of  $\text{Ca}^{2+}$  content in subsoil decrease the  $\text{Al}^{3+}$  toxicity [42] boosting plant root growth and, in consequence, microbial activity.

The SOM had a stronger relationship with enzyme activity in the South and Central-West fields with  $r$  values of 0.78 to 0.83 ( $p < 0.01$ ) (Table 5). In the Northeast fields the SOM had a relationship with  $\beta$ -glucosidase but not with arylsulfatase. Moreover, in this agro-ecoregion the only soil attribute that had a relationship with  $\beta$ -glucosidase activity was SOM. The relationship of  $\beta$ -glucosidase and arylsulfatase enzyme activity with TOC was previously reported by Mankolo et al. [43] in Alabama (USA) cotton fields, with  $r$  values of 0.58 and 0.66, respectively, and with TN, with  $r$  values of 0.39 and 0.48,

respectively. These authors highlight that the enzymes  $\beta$ -glucosidase and arylsulfatase were efficient bioindicators in detecting changes in soil tillage systems (CA compared to conventional tillage). The sandy soils from Alabama in that study had a soil texture similar that of the soils in the Central-West fields in our study (Table 5).

In our study, TN had relationships of 0.94, 0.81, and 0.73 ( $p < 0.01$ ) with SOM,  $\beta$ -glucosidase, and arylsulfatase enzymes, respectively (Table 5). These relationship  $r$  values are higher than those reported by Mankolo et al. [43]. In our study, the lower relationship between TN and SOM with enzyme activity occurred in the Northeast fields, where only the  $\beta$ -glucosidase had a significant relationship with SOM. This result may be associated with the lower lability of SOM in this agro-ecoregion fields that had higher C/N ratio (12.0 to 15.4) than other agro-ecoregions fields, such as the South that had lower C/N (9.9 to 12.2) (Table 4).

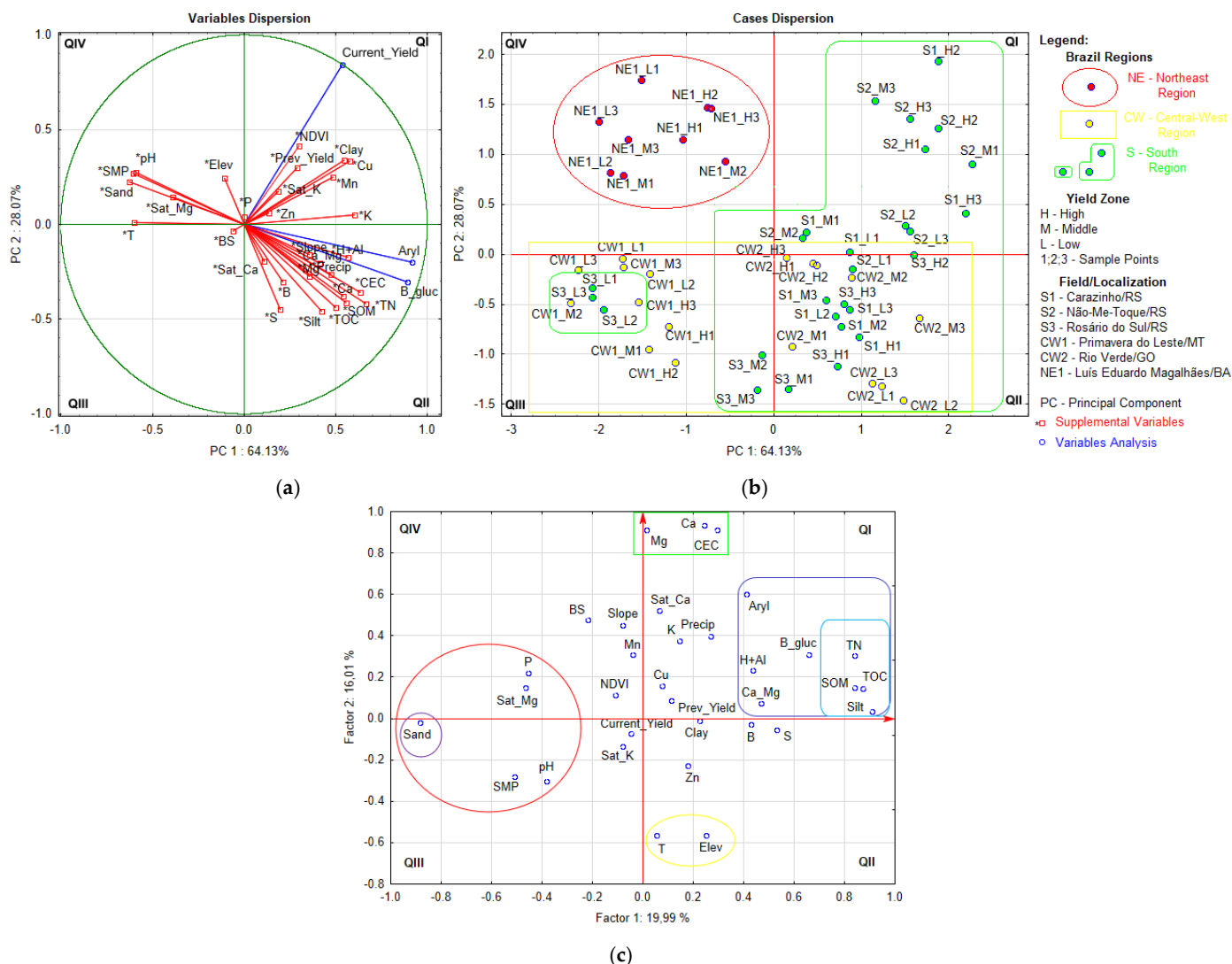
In the PCA analysis, the two main components explained 92.2% of the data variance of enzyme activity, physics, and chemical soil attributes, elevation, precipitation, temperature, NDVI, and crop yield (Figure 2a). Attributes that related positively to enzyme activity were SOM, TOC, TN, CEC,  $\text{Ca}^{2+}$  content, and  $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$  ratio and  $\text{H} + \text{Al}^{3+}$ . On the other hand, in the opposite quadrant (QIV), sand content, soil pH in water, pH SMP index, temperature, and  $\text{Mg}^{2+}$  saturation were negatively related to enzyme activity (Figure 2a,b). Regarding soybean yield, the main drive factors were NDVI, yield obtained in previous seasons, clay content, and  $\text{Cu}^{2+}$  and  $\text{Mn}^{2+}$  micronutrients content. In general, it was possible to note that a greater number of attributes were associated with enzyme activity (QII Figure 2a). This result confirms that enzyme activity is a sensitive environmental bioindicator.

The annual average air temperature was positioned in the opposite quadrant (QIV Figure 2a) from enzyme activity (QII Figure 2a). The high temperature typical of the tropical environment enhanced SOM biological oxidation rate and reduced its stock, mainly the labile fraction, that is the main substrate for soil biota. On the other hand, the annual average precipitation was positioned in the same quadrant of enzyme activity (QII Figure 2a). The high precipitation could be associated with a high photosynthesis rate and high crop residue input resulting in higher SOM content and enzyme activity. In addition, microbiota is positively related to increase in soil moisture until it reaches a maximum limit [39].

The dispersion case is shown in Figure 2b where the Northeast agro-ecoregion field was positioned in quadrant QIV, being in a distinct position relative to other fields. The Northeast fields have some specific characteristics that may explain this fact, such as higher air temperature, lower annual precipitation (Table 1), higher sand content, lower SOM content, higher soil pH in water and pH SMP index, and a narrower  $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$  ratio (Table 2) in relation to the other fields. In general, the South and CW-1 fields were positioned in the same quadrants (QI and QII). These fields have distinct characteristics of climate and soil according to the agro-ecoregions they are located in, but they have in common the fact that the high quality CA systems have gradually improved soil quality based on the increase in crop residue input by use of cover crops (i.e., consortium of cover crops in South agro-ecoregion field) or tropical pasture with deep root systems (e.g., *Brachiaria* spp. in single use or in combination with maize in CW-2 agro-ecoregion field). In addition, there was an improvement in subsoil chemical quality by  $\text{Ca}^{2+}$  increase and  $\text{Al}^{3+}$  decrease and site-specific soil fertility management through precision agriculture, resulting in these fields being grouped in the same quadrants in the PCA analysis.

The CW-1 field was positioned in a quadrant different from most of the other fields (QIII Figure 2). The CW-1 field had higher sand content (Table 2), lower SOM content (Table 3), and lower elevation (Table 1) in relation to the CW-2 field, thus helping to explain that although both sites were in the Central-West agro-ecoregion, they were positioned in different quadrants. The S-3 agro-ecoregion (Rosário do Sul county) had sandy textured soil, lower altitude, lower precipitation, and higher summer temperature (Table 1) that resulted in lower SOM content (Table 4) in relation to the S-1 and S-2 fields (Não-Me-Toque and Carazinho counties, respectively). The LYE of the S-3 field was

positioned in the same quadrant as the CW-1 field (QIII). In general, most of the S-1 and S-2 fields with MYE and HYE were positioned in quadrant QI that was associated with high crop yield in the PCA (QI Figure 2a). Most of the S-1, S-2 and CW-2 fields with MYE and LYE were positioned in quadrant QIII that was associated with enzyme activity in the PCA analysis (QII).



**Figure 2.** (a) Projection of the dispersion of variables (b) and of the cases by principal components analysis (PCA), among soil attributes, elevation, climate and crop yield in conservation agriculture fields of main Brazilian agro-ecoregions.  $\beta$ -glucosidase (B\_gluc) and arylsulfatase (Aryl) activity and soybean crop grain yield (Current\_Yield) of the 2020/21 season were taken as the main variables in the analysis. The supplementary variables (\*) were: previous years relative yield (Prev\_yield); sand; silt; clay; total nitrogen (TN); total organic carbon (TOC); potential of hydrogen (pH); SMP index (SMP); phosphorus (P); potassium (K<sup>+</sup>); soil organic matter (SOM); calcium (Ca<sup>2+</sup>); magnesium (Mg<sup>2+</sup>); cation exchange capacity (CEC); potential acidity (H+Al); bases saturation (BS); sulphur (S); zinc (Zn<sup>2+</sup>); copper (Cu<sup>2+</sup>); boron (B); manganese (Mn<sup>2+</sup>); calcium/magnesium relation (Ca\_Mg); calcium saturation (Sat\_Ca); magnesium saturation (Sat\_Mg); potassium (Sat\_K); average annual air temperature (T); annual precipitation (Precip); slope; elevation (Elev); normalized difference vegetation index (NDVI); (c) dispersion of variables, according to their contribution to the formation of Factors 1 and 2;  $n = 54$ .

Interestingly, even the fields with very distinct soil attributes, such as soil texture and climate such as subtropical (S-3) and tropical (CW-1), were grouped together with regards to crop performance and enzyme activity (S and CW-1 fields in quadrant QII and S-3 LYE and CW-2). This suggests that soil management had a strong effect on crop performance and enzyme activity, regardless the climate and soil texture. This result suggests that with appropriate regional management practices under CA, it is possible to

reach high crop performance and soil health, assessed by enzyme activity in a broad range of soil types and climates. The case of the S-3 agro-ecoregion is particularly interesting in LYE which was closer to the CW-1 field (QIII), in MYE which was closer to the CW-2 field (low portion of the QII), and finally, in HYE which was closer to the S-1 and S-2 fields in MYE or LYE and with the CW-2 field in HYE (high position of quadrant QII). In decreasing order of crop performance and enzyme activity, we observed: S-1 > S-2 > S-3 > CW-2 > CW-1 > NE-1. It is important to highlight that S1 is the field that had Du Pont national prizes for high soybean yield (5668 kg ha<sup>-1</sup> in the 2015 season) (<https://revistacultivar.com.br/noticias/duPont-do-brasil-reconhece-desempenho-de-sojicultores-da-regiao-sul>, accessed on 20 October 2021) and in 2016/17 season the maize yield in this field reached 14,700 kg ha<sup>-1</sup>. These cases demonstrate that CA management was a tool that facilitated higher crop yields with improved soil life based on enzyme activity and restoration of SOM content (Table 4).

The soil attributes and weather attributes in the PCA analysis are shown in Figure 2c. In the first quadrant (QI), the arylsulfatase and  $\beta$ -glucosidase were grouped, as expected, with SOM, TOC, TN and silt content (Table 3) and Ca<sup>2+</sup>/Mg<sup>2+</sup> ratio (Table 2). In addition, the CEC, Ca<sup>2+</sup> and Mg<sup>2+</sup> content and Ca<sup>2+</sup> saturation, annual precipitation, K<sup>+</sup> and Cu<sup>2+</sup> content, and previous crop yields were positioned in Q1, i.e., the same quadrant of high crop performance (Figure 2a). In an opposite position to these attributes were grouped sand content, Mg<sup>2+</sup> saturation, soil pH in water and pH SMP (QIII and QIV, Figure 2c). It should be highlighted that in the NE-1 agro-ecoregion the soil pH in water was higher than in other agro-ecoregion fields (Table 3) justifying in part the presence of this attribute. While the Mg<sup>2+</sup> saturation was associated with imbalances in the Ca<sup>2+</sup>/Mg<sup>2+</sup> ratio. On the other hand, the P content that had values within the range 18.4–76.7 mg dm<sup>-3</sup> show that some fields had very high P content concentrate in a specific soil layer (0–0.10 m), where a content near to 15 mg dm<sup>-3</sup> could be the crop critical level (Table 2).

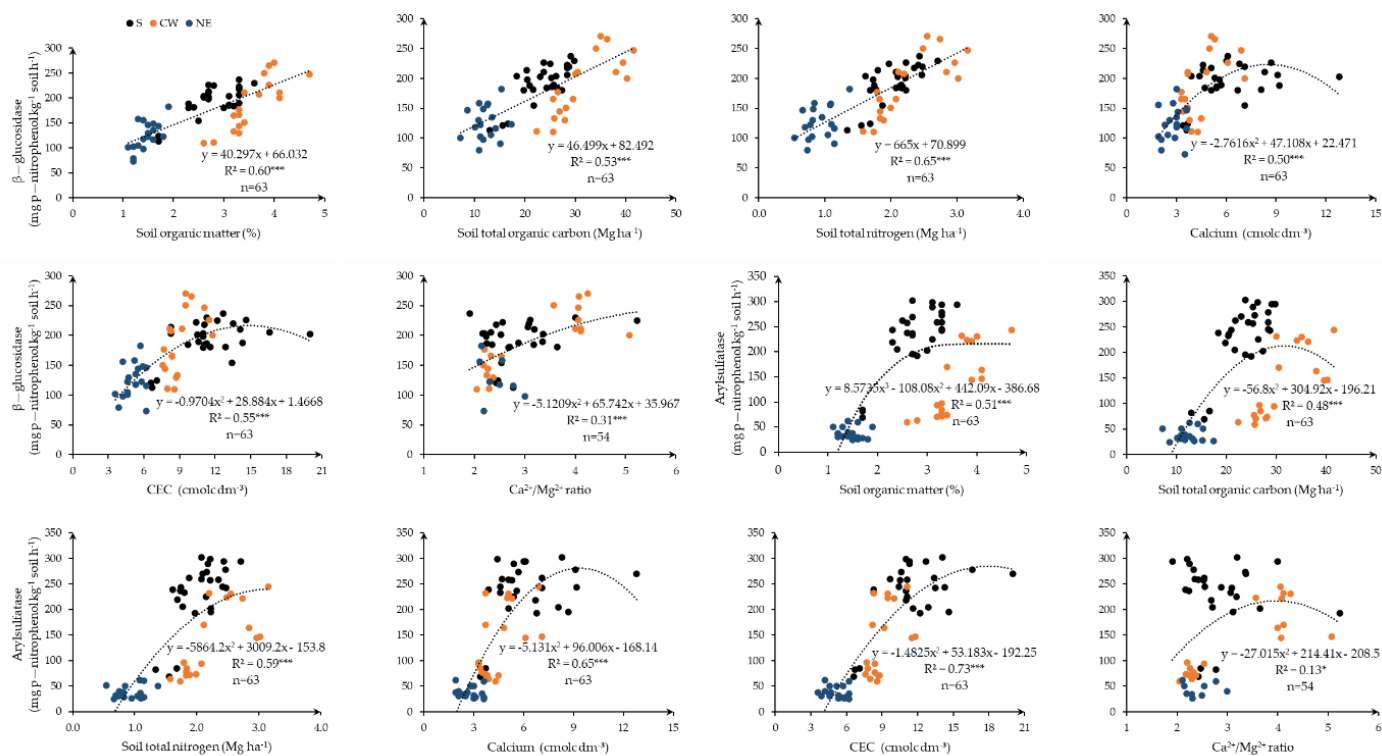
The temperature and elevation (QII, Figure 2c) were also grouped in a position far from the promoters of crop performance confirming that the high temperature in the tropical environment was an important plant abiotic stress factor.

Figure 3 shows the relationship of key soil attributes with  $\beta$ -glucosidase and arylsulfatase. This figure shows that SOM content in 0–0.10 m depth had a positive linear relationship with  $\beta$ -glucosidase which explained around 60% of the variability of this enzyme activity. The maximum enzyme activity was reached with the highest SOM content (near to 5%). The arylsulfatase had a quadratic relationship with SOM, with maximum activity reaching close to 3.55%. Xu et al. [40] reported that SOM and TN had a positive relationship of 0.83 with enzyme activity. The authors explained that microorganisms need nutrients and energy from labile fractions of SOM. In addition, SOM retains soil moisture, and enhances CEC and soil aggregation that boosts microbial activity. In our study TN had a positive linear relationship with  $\beta$ -glucosidase suggesting that legume cover crops could be an important strategy to restore TN stocks and enhance soil biological activity [38].

A recent exploratory study of soil analyses from South Brazil laboratories ( $n = 35,362$ ) reported that 55% of the soil samples had SOM < 2.5% [44]. In our study, with a more limited database, we found around 40% of the data points with low SOM (<2.5%) that were associated with low enzyme activity (Figure 3). These data suggest an urgent need to revise the cropping system adopted by enhancing rotations and the use of legume cover crops in association with no tillage in order to build up SOM [45].

SOM restoration and enzyme activity are strongly linked to CA principles. Pires et al. [7] reported in a long-term tillage systems experiment (32 years) that crop rotation and cover crops under CA increased SOM in the topsoil compared with intensively tilled soils. Moreover, the crop diversification increased soil microbial diversity, resulting in aggregate stability and SOM protection. In their study, the  $\beta$ -glucosidase activity was 69% higher in CA than in tillage-based systems. Moreover,  $\beta$ -glucosidase was increased by 23% under CA with crop rotation compared to no-till monocropping systems. Avoidance of mechanical soil disturbance stimulates fungi growth and its hyphal networks, which

allows fungi to establish bridges at the mulch–soil interface, increasing SOM stabilization. In addition, the effect of maintaining the mulch cover year-round in the range of 3–5 Mg ha<sup>-1</sup> on the soil surface is to reduce soil temperature and increase soil moisture that enhances beneficial fungi activity and balances the fungi/bacteria ratio (F/B) [46]. In general, the fungi community is more sensitive to soil disturbance and the quantity and quality of root exudates and crop residues input [47]. Therefore, this community can be boosted by polyculture of cover crops including legumes and crop rotation [48,49].



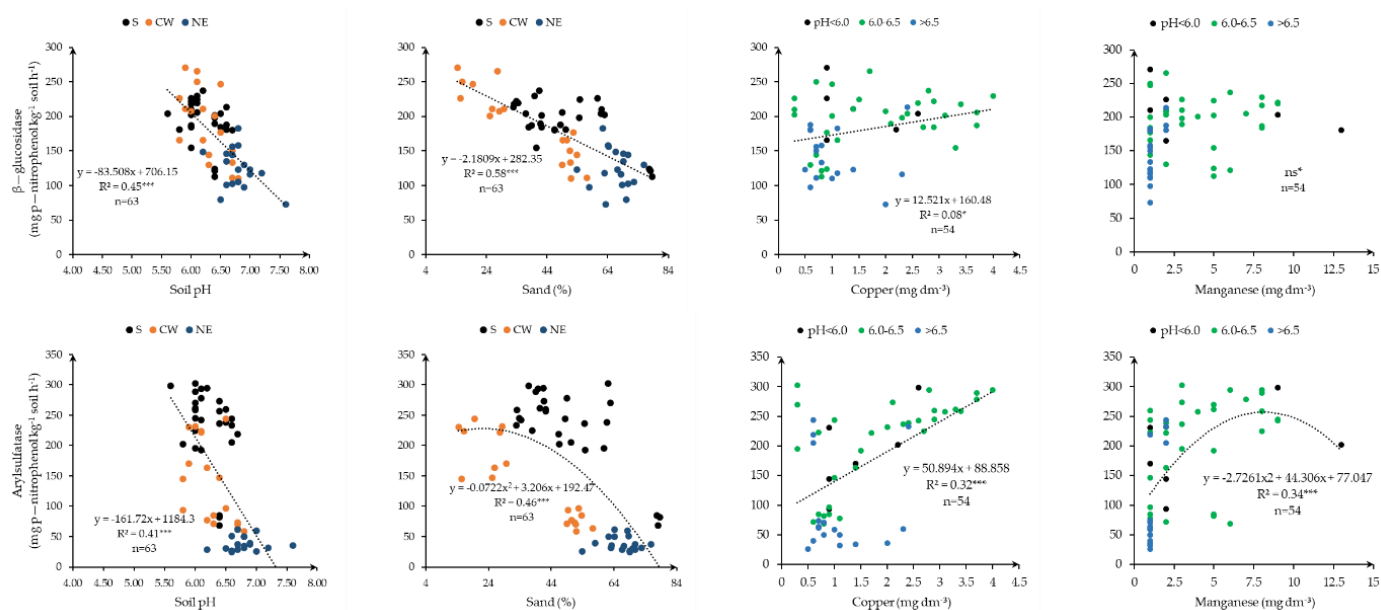
**Figure 3.** Relationships between the activity of  $\beta$ -glucosidase and arylsulfatase enzymes with soil organic matter (SOM) determined by wet oxidation, total organic carbon (TOC), and nitrogen (TN) determined by dry combustion, calcium content (Ca<sup>2+</sup>), cation exchange capacity (CEC) and Ca<sup>2+</sup>/Mg<sup>2+</sup> ratio in seven Brazilian fields from main agro-ecoregions. Significance codes: \*\*\*  $p < 0.001$ ; \*  $p < 0.05$ .

The Ca<sup>2+</sup> content had a quadratic relationship with  $\beta$ -glucosidase reaching a plateau near 8 cmolc dm<sup>-3</sup> that is double the Ca<sup>2+</sup> critical level suggested for most of crops (4 cmolc dm<sup>-3</sup>). The CEC had a quadratic relationship with  $\beta$ -glucosidase reaching the plateau near 14 cmolc dm<sup>-3</sup>. The Ca<sup>2+</sup>/Mg<sup>2+</sup> ratio also had a quadratic relationship with  $\beta$ -glucosidase suggesting that a ratio of 3–5 could boost this enzyme activity. The fields with Ca<sup>2+</sup>/Mg<sup>2+</sup> below 3 and Mg<sup>2+</sup> saturation higher than 20% were associated with long-term dolomitic lime input [42] and monocropping soybean that had higher Ca<sup>2+</sup> grain exportation than Mg<sup>2+</sup> [50].

Dalla Nora and Amado [51] reported that Ca<sup>2+</sup> and Mg<sup>2+</sup> contents are drivers of root growth in acid tropical soils allowing roots access to available water in the subsoil. The positive effect of Ca<sup>2+</sup> in root cell division results in higher root growth which is important for SOM content restoration and improvements in soil aggregation in addition to increasing root exudates that stimulate soil biota and enzyme activity [39].

The arylsulfatase had a quadratic relationship with SOM, TOC and TN, having lower sensitivity to these attributes than  $\beta$ -glucosidase that had a linear relationship with these attributes. The arylsulfatase had a quadratic relationship with Ca<sup>2+</sup> content but with higher sensitivity to low Ca<sup>2+</sup> content than  $\beta$ -glucosidase (Figure 3). A similar trend was noted with CEC where arylsulfatase was more sensitive than  $\beta$ -glucosidase to low CEC values. The Ca<sup>2+</sup>/Mg<sup>2+</sup> ratio was more critical to  $\beta$ -glucosidase than to arylsulfatase, although both had quadratic relationships.

The P content was grouped with other attributes that were contrary to crop yield and enzyme activity (Figure 2c). This behavior was not expected in weathered tropical soils with high P-fixation capacity. However, long-term high rates of P fertilization input with high rates at the same depth could result in strong vertical nutrient stratification due to low P soil mobility [52,53] with a negative impact on soybean root deepening and grain yield under water stress [54]. This is because there is a strong stimulus to shallow root growth in high P concentration zones in detriment to deepening of the root system through soil profile (Table 2). Previous studies aimed at evaluating the relationship of soil P content and soil biota have revealed that high P content was associated with reduction in biota diversity, mainly mycorrhizal fungi [55–57]. In addition, excessive P fertilization can aggravate  $Zn^{2+}$  and  $Cu^{2+}$  deficiency, as noted in this study in Figure 4 and in the PCA analysis (Figure 2c).



**Figure 4.** Relationships among the activity of  $\beta$ -glucosidase and arylsulfatase enzymes with soil pH, sand content, copper ( $Cu^{2+}$ ) and manganese ( $Mn^{2+}$ ) in seven Brazilian fields from main agro-ecoregions. Significance codes: \*\*\*  $p < 0.001$ ; \*  $p < 0.05$ ; ns\* = not significant.

Figure 4 shows the relationship of soil pH water and sand texture with enzyme activity, where a negative linear relationship was found. The negative relationship of soil pH in water with enzyme activity in acid tropical and subtropical soils was not expected, but was associated with values of soil pH in water reported in our study (Table 2). The range of soil pH in water was  $5.9 (\pm 0.3)$  to  $7.0 (\pm 0.5)$  with a high number of sampling points with soil pH in water exceeding 6.0 that could explain the negative relationship found. In Table 2 only 9.5% of the sampling points were less than 6.0 soil pH in water where a positive relationship between soil pH in water and enzyme activity was expected. On the other hand, 46.0% had higher values than 6.5 soil pH in water where the probability of lime crop yield response was very low.

Although, both enzymes investigated had a negative linear relationship with high soil pH in water, the linear coefficient for arylsulfatase was almost double that of  $\beta$ -glucosidase, suggesting that the former was more sensitive to change in soil pH in water. However, values of soil pH in water higher than 6.5 in acid tropical soils were harmful to enzyme activity. In natural conditions, these soils generally have a soil pH in water below 5.0 [58]. Although the microbiome has mechanisms to adjust to abrupt environmental changes from an acid soil pH in water to much higher levels than in the natural condition, this can cause breakages in the helical DNA structure and increase in lipid hydrolysis in microorganisms [59–61].

Stark et al. [62], in tundra ecosystems, reported that an increase in soil pH in water from 5.6 to 6.6 resulted in higher plant nutrient availability which in turn enhanced enzyme activity, mainly  $\beta$ -glucosidase. However, when the soil pH in water was increased above 6.6, there was a decrease in enzyme activity as reported in our study. However, there is some uncertainty about whether this was a direct effect on microbiota or on the available organic substrate. In our study the optimum range of pH for enzyme activity was in the range of 5.5 to 6.5.

The Northeast field had the highest soil pH in water values (Figure 2). The soil of this agro-ecoregion is sandy with low SOM content that results in a low buffer capacity. Many farmers from that agro-ecoregion come from the South agro-ecoregion and they are used to applying higher lime rates adjusted to clay soils and high SOM content and, in consequence, to higher buffer capacity [63]. The input of these rates in the Northeast fields resulted in a sharp increase in soil pH in water that was associated with low metallic micronutrients availability, such as  $\text{Cu}^{2+}$  and  $\text{Mn}^{2+}$  [64] (Figure 4). The sand content had a linear and quadratic relationship with  $\beta$ -glucosidase and arylsulfatase, respectively. As the sand texture increased, the SOM and TN decreased (Table 5) with a negative impact on the soil biota. In our study a positive relationship of  $\text{Cu}^{2+}$  with both enzyme activity and of  $\text{Mn}^{2+}$  to arylsulfatase activity was found. The metal organic complex of  $\text{Cu}^{2+}$  and  $\text{Mn}^{2+}$  affects the plant nutrient uptake [65] and the enzyme activity (Figure 4). This agrees with the PCA analysis that showed that these metallic micronutrients were associated with crop yield in previous seasons and NDVI in the current season (Figure 2). Considering that the low metallic micronutrients availability was associated with soil pH in water higher than 6.5 highlights that there is a need in some tropical soils with low buffer capacity to accurately formulate the lime rate prescription and use fertilizers with these nutrients to compensate for their removal in grain exportation (Figure 4).

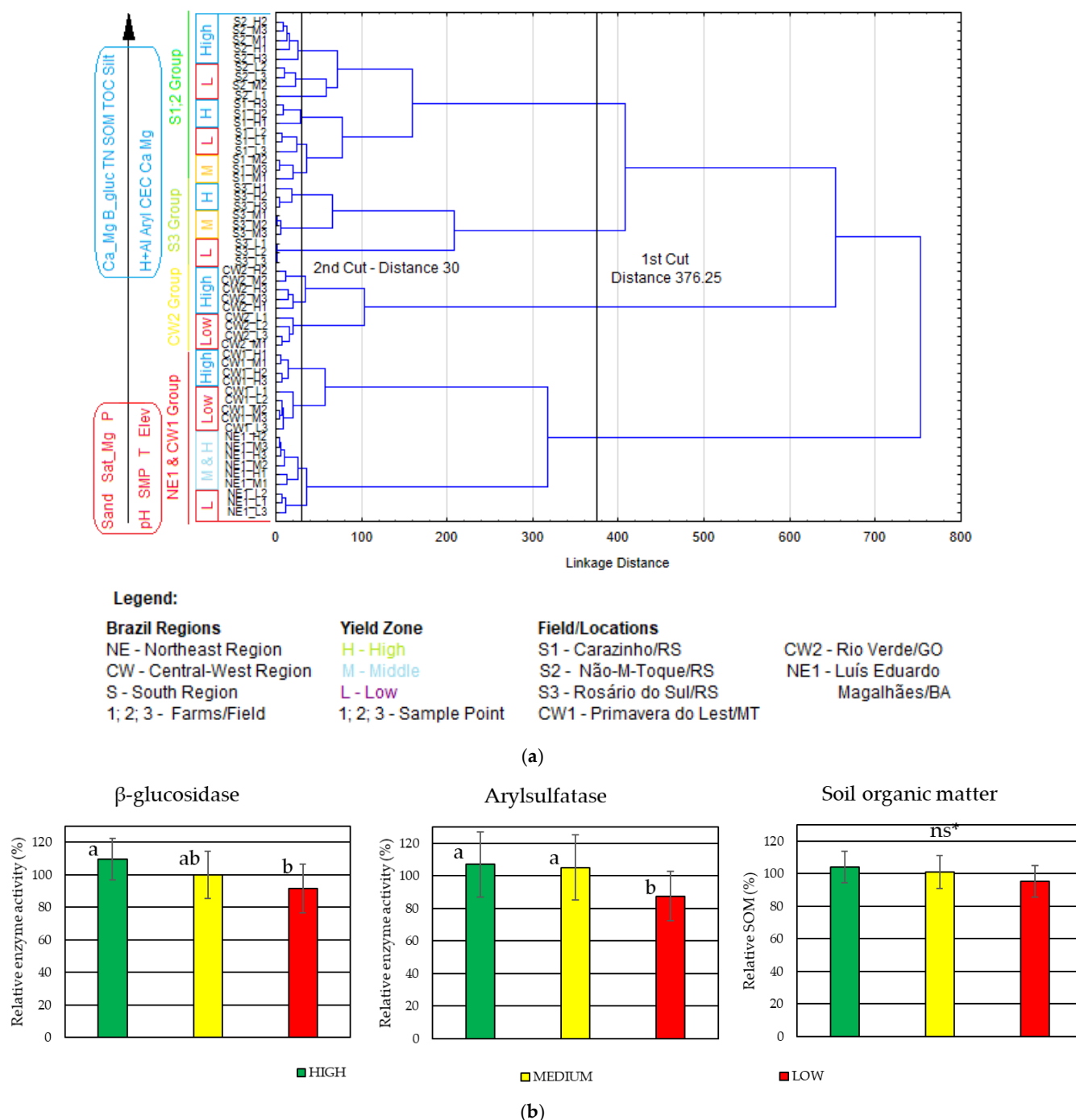
$\text{Mn}^{2+}$  plays an important role in plant metabolic functions acting as an essential cofactor in the reduction of oxygen and stimulating the photosynthetic machinery by catalyzing the water division in photosynthesis [66]. In addition,  $\text{Cu}^{2+}$  is an essential component of various proteins that act in photosynthesis, respiration, and phytohormones linked to pollen production [64]. Therefore, the metallic micronutrients are essential to plant hormonal metabolism related to crop performance, as observed in the PCA analysis in our study (Figure 2). Their deficiency generally is associated with high pH (Figure 4), low SOM content, and dry soil [64], as verified in the Northeast field in our study (Table 2).

### 3.3. Enzyme Activity and Biodiversity under Varying Crop Yield Environments

The cluster analysis shown in Figure 5a agrees with the cluster analysis shown in Figure 2a. In Figure 5a there is a division of data by agro-ecoregions and YEs. In the first cut the NE-1 and CW-1 fields were split from the others with a strong influence of sand content,  $\text{Mg}^{2+}$  saturation, P content, soil pH in water, temperature, and elevation. On the other hand, the CW-2 agro-ecoregion field was similar to the S-3 field, being in an intermediate position. Finally, the S-1 and S-2 (clay soils) fields were affected by  $\beta$ -glucosidase and arylsulfatase enzymes activity,  $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$  ratio, SOM content, TOC, CEC,  $\text{Ca}^{2+}$  and  $\text{Mg}^{2+}$  content, silt, and  $\text{H} + \text{Al}^{3+}$ , as previously discussed in the PCA analysis (Figure 2). In this way, four groups were constructed in Figure 5. The first group was associated with soil and weather detractor factors of enzyme activity, the second and third groups were in an intermediate position, and the fourth group was associated with promoter factors of enzyme activity.

In Figure 5a, the YEs within fields were distinguished, mainly in the second cut (Figure 5a). In Figure 5b, the different YEs, averaged across agro-ecoregions, were distinguished which highlighted that LYE was different from HYE and confirmed that the use of precision agriculture was an important tool for site-specific management in CA systems. Lorenz et al. [67] previously reported that  $\beta$ -glucosidase activity had a relationship with corn yield. In our study, the LYE had lower enzyme activity compared with HYE, with decreases of 18.0% and 19.6%, respectively (Figure 5b). These decreases

were higher than the difference in SOM content between these environments which was 8.6% but without significant statistical difference.



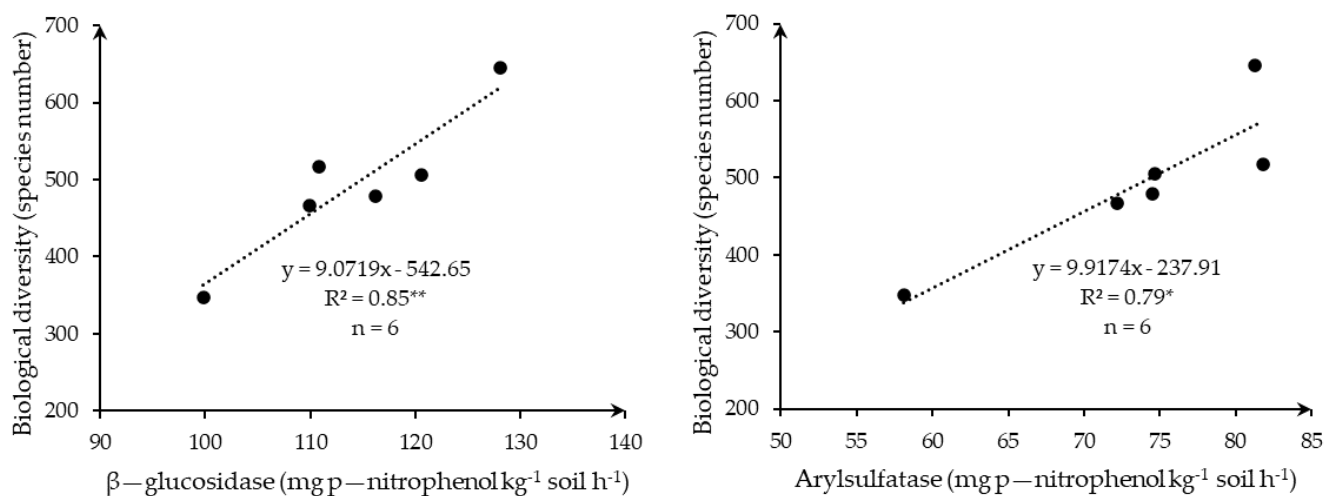
**Figure 5.** (a) Cluster analysis of case grouping among soil attributes, slope, climate and crop yield,  $n = 54$ ; (b)  $\beta$ -glucosidase and arylsulfatase enzyme activity and SOM content relative to the average of the field in different yield potential environments (high, medium and low) in seven Brazilian fields from main agro-ecoregions. Values followed by the same letter do not differ statistically by Tukey test ( $p < 0.05$ ), ns\* = not significant,  $n = 63$ . Error bars correspond to standard deviation.

Lopes et al. [19] carried out a study aiming to establish critical levels of cellulase,  $\beta$ -glucosidase, arylsulfatase, and phosphatase enzyme activities for Central-West Brazilian Oxisols. They reported that high yielding soils generally had higher microbial biomass C, microbial respiration, and high enzymatic activity. These findings are in line with the results reported in our study (Figure 5b). Based on these critical enzyme activity levels [19], nearly 70% of the whole database of our study, comprising 63 sampling points, was



classified as high enzyme level ( $>115$  mg p-nitrophenol  $\text{kg}^{-1}$  soil  $\text{h}^{-1}$ ) and 30% as moderate enzyme level (66–115 mg p-nitrophenol  $\text{kg}^{-1}$  soil  $\text{h}^{-1}$ ). On the other hand, with arylsulfatase the enzyme activity levels were 55.5%, 30.2%, and 14.3% corresponding to high ( $>90$  mg p-nitrophenol  $\text{kg}^{-1}$  soil  $\text{h}^{-1}$ ), moderate (41–90 mg p-nitrophenol  $\text{kg}^{-1}$  soil  $\text{h}^{-1}$ ), and low activity ( $\leq 40$  mg p-nitrophenol  $\text{kg}^{-1}$  soil  $\text{h}^{-1}$ ), respectively. It is important to highlight that these critical levels were proposed for the Central-West agro-ecoregions, and extrapolation to other Brazilian agro-ecoregions should be made with caution [15].

In one field (S-2), we investigated the relationship of the enzyme activity to soil DNA analysis (Figure 6). There was a linear relationship between  $\beta$ -glucosidase and arylsulfatase enzymes and the diversity of the microorganism community (fungus, bacteria, protist and archaea genera) with coefficients of determination of 0.85 ( $p < 0.01$ ) and 0.79 ( $p < 0.05$ ), respectively. These results reinforce the role of enzyme activity as an efficient bioindicator of soil health [15].

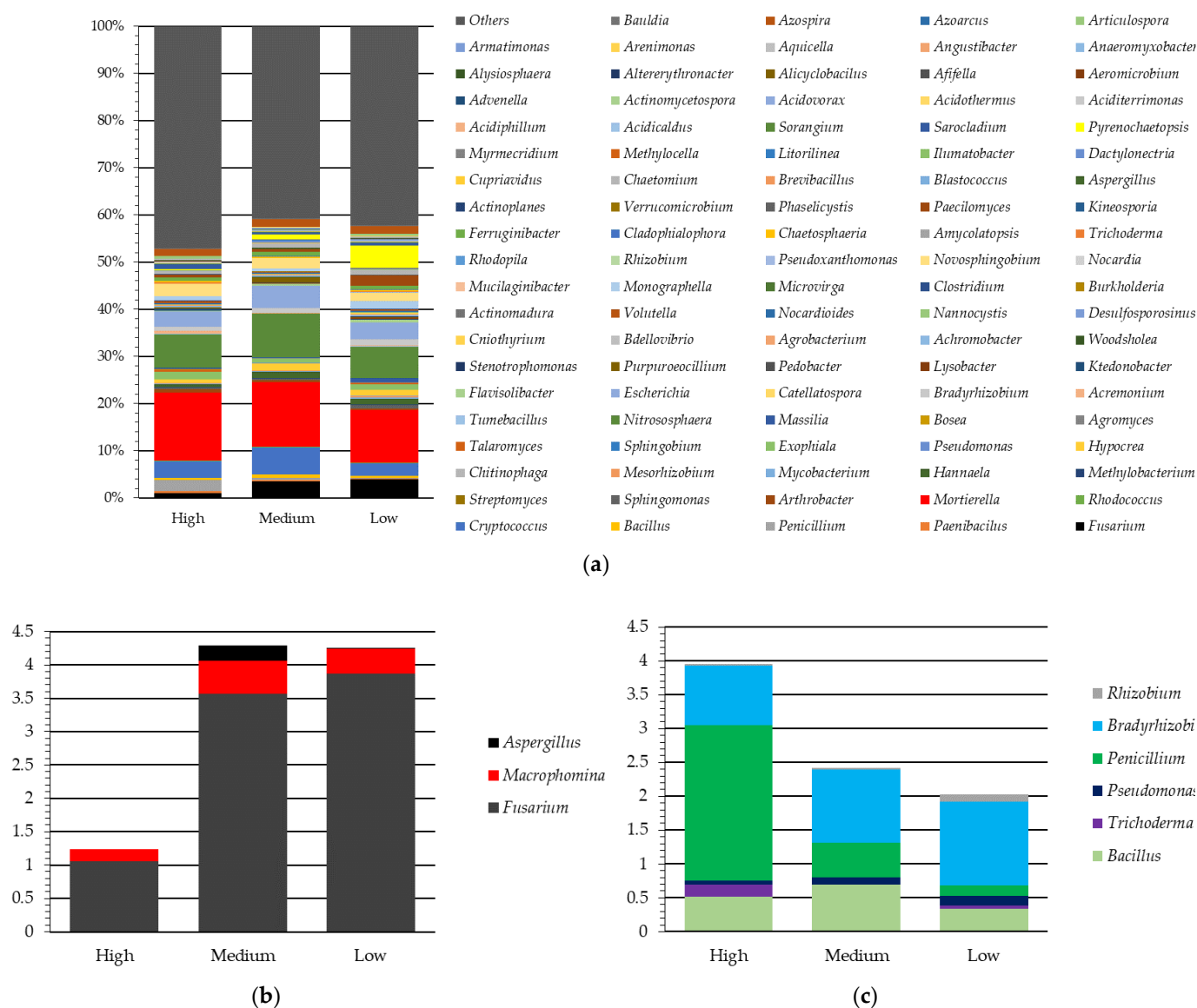


**Figure 6.** Relation of  $\beta$ -glucosidase and arylsulfatase enzymes activity under conservation agriculture and biodiversity assessed by DNA characterization in Southern Brazil field (S-2) N3o-Me-Toque, RS. Significance codes:  $** p < 0.01$ ;  $* p < 0.05$ .

Bacteria and fungi are the main producers of extracellular enzymes that drive the process of degradation of complex polymeric compounds into simpler compounds (oligomers and monomers). Protists (protozoa and simple algae) play an important role in soil biogeochemical decomposition processes by bacteria that release nutrients to plants and create a “microbial loop” that is highly dependent on the quality of the crop residue input [68–70].

The microbiome species characterization in the S2 field (Figure 7a) showed that the HYE had a better balance among microorganism species, where the top 100 more abundant genera in the community comprised 52.9% of the total population. On the other hand, in the MYE and LYE the top 100 genera comprised 59.2% and 57.7% of the total microorganism community population suggesting lower microbial diversity [46].

The abundance of beneficial soil microorganism species is an important indicator of soil health. In our study, the genus *Mortierella* was the most abundant, accounting for 14.4%, 13.7% and 11.2% of total microbial population in HYE, MYE and LYE, respectively (Figure 7a). Ozimek and Hanaka [71], in a review of plant growth-promoting microorganisms, reported that some fungi, such as the *Mortierella* genus, are usually present in large amounts in the rhizosphere and help plant growth in hostile environments by increasing plant P uptake. Some microorganisms associated with legumes cover crops could provide phytohormones such as enzyme 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase, responsible for the conversion of ACC (the precursor of ethylene in plants) into ammonia and  $\alpha$ -ketobutyrate, which promotes plant growth by decreasing ethylene levels. This bioenzyme could help plants to pest attack protection and increase their environmental adaptation skill [72].



**Figure 7.** (a) Soil biodiversity evaluated by DNA barcode approach and accumulated proportion of most abundant genera of soil microorganisms classified as (b) pathogens and (c) beneficial to plant growth under varying yield environments under conservation agriculture in Southern Brazil (S-2 field) Não-Me-Toque, RS,  $n = 6$ .

Plant-microbe interactions in the rhizosphere are key factors in plant vigour and grain yield [73]. The main mechanisms involved are related to the bioavailability of nutrients, such as phosphate solubilization and biological N fixation, and biotic and abiotic stress alleviation [73]. Among the main genera of plant growth-promoting organisms are *Bacillus* and *Pseudomonas*, known as plant growth-promoting bacteria (PGPB) [14,73], and *Penicillium* and *Trichoderma*, known as plant growth-promoting fungus (PGPF), and soil biocontrol promoters [14,74–76]. Atmospheric N fixation could also be associated with the presence of *Bradyrhizobium* and *Rhizobium* [77]. These microorganisms were more abundant in HYE, being 64% and 96% more abundant than in MYE and LYE, respectively (Figure 7c). The organisms selected in our study were previously proposed by Shah et al. [5] in a review article regarding the role of soil microbes in sustainable crop production and soil health.

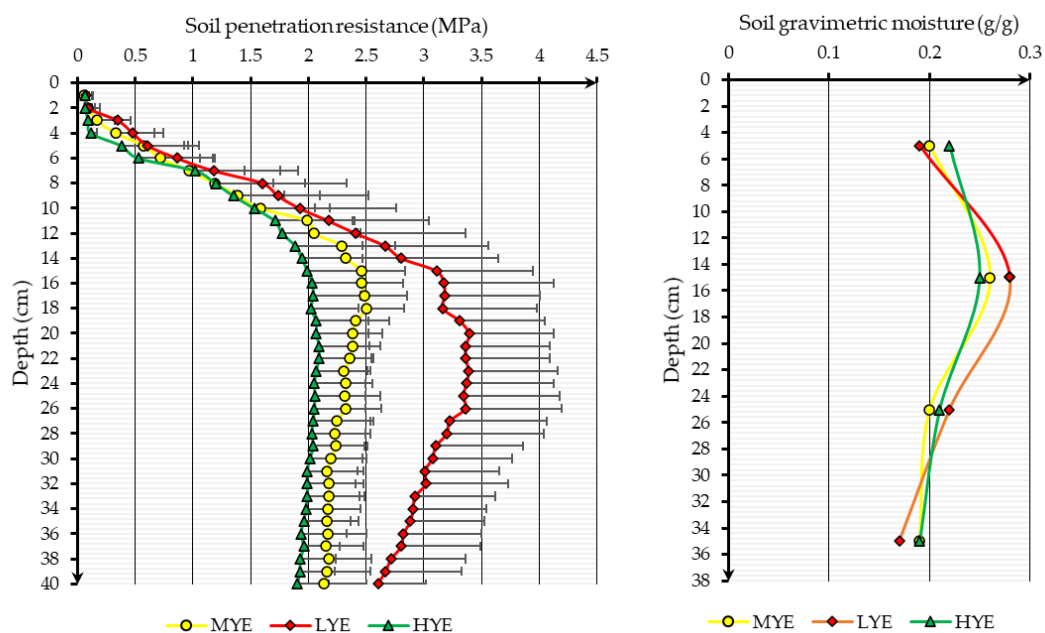
The most important plant pathogenic microorganisms found in our study were *Fusarium*, *Macrophomina*, and *Aspergillus* genera, that together were about 245% higher

in MYE and LYE than in HYE (Figure 7b). Therefore, the plants growing in MYE and LYE were under much higher pressure from soil plant diseases than in HYE.

Production fields managed under soybean monocropping and without diversification with cover crops are more prone to *Fusarium* root rot [78]. This is one of the most important soybean soil diseases that occurs in many fields in the North and South America [79,80]. Soybean lateral roots with *Fusarium* root rot may die and, in consequence, reduce plant nutrients uptake and exudates production that could support a more diversified soil biota [81]. It is important to highlight that this genus was the most prevalent in LYE and MYE and was associated with a decrease in plant-growth-promoting organisms (Figure 7c). Ranzi et al. [80], evaluating the soybean and maize in monocropping systems, were able to identify up to nine *Fusarium* species connected with the lack of crop diversity and high soil compaction.

The genera *Penicillium*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, and *Trichoderma* play an important role in plant protection from *Fusarium* attack [74–76,82–84] through the production of antibiotic bioproducts, the modulation of ACC deaminase expression, and by increasing soil nutrient uptake that results in higher plant photosynthesis rates and plant vigour status. In addition, these microorganisms could induce a reprogramming of plant gene expressions that increases plants' ability to cope with biotic and abiotic stresses [74,75,85–87]. In our study, *Penicillium* was strongly associated with YEs being 351% and 1338% higher in HYE than in MYE and LYE, respectively (Figure 7). Therefore, in MYE and LYE, the lower population of *Penicillium* was linked with a higher population of *Fusarium* sp. (Figure 7).

In our study, soil compaction was evaluated based on the soil penetration resistance (PR) in the three YEs investigated (Figure 8). Our results are consistent with those of Pott et al. [23] in the same field of our study that reported higher PR, lower macroporosity and lower water infiltration in LYE than HYE. In our study, PR was higher at depths greater than 0.15 m and followed the decreasing order: LYE > MYE > HYE (Figure 8). PR > 2.5 MPa is assumed to be a critical value for soybean root growth and crop yield [88]. LYE had PR greater than this critical value, while MYE and HYE did not reach this reference at any soil depth (Figure 8). High PR values could affect soil aeration, mainly in clay soils, and stimulate the occurrence of *Fusarium* sp. under frequent rainfall conditions [89–91].



**Figure 8.** Soil penetration resistance and soil moisture in varying environment yields in conservation agriculture in South Brazil (S-2 field). Error bars correspond to standard deviation.

Figure 9a shows the PCA that explains 75.1% of the variance in the data of plant-growth organisms and plant pathogenic organisms and their relationships with soil attributes. This information is important for biologically oriented soil management. There was a positive effect of  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$  content, corn yield (season 2019/20), macroporosity, silt, SOM, TOC, TN, CEC, EC, pH SMP,  $\text{Zn}^{2+}$  and soil pH in water, with *Trichoderma* sp., *Penicillium* sp. and *Bacillus* sp. positioned in QI and QII (Figure 9a). On the other hand, the pathogenic organisms represented by *Fusarium* sp., *Macrophomina* sp. and *Aspergillus* sp. were associated with PR, S,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$  ratio, sandy content,  $\text{H} + \text{Al}^{3+}$ , soybean yield (2020/21), were positioned in QIII and QIV (Figure 9a).

There was an antagonistic relationship between *Penicillium* sp. (QI) and *Fusarium* sp. (QIV), and between *Trichoderma* sp. and *Macrophomina* sp. (Figure 9a). These results could be explained by the biocontrol effect of *Penicillium* sp. and *Trichoderma* sp. The *Bacillus* sp. was in the same quadrant (QII) of TN, SOM and TOC soil attributes.

In the factorial analysis, it was shown that: *Penicillium* sp. was associated with  $\text{Ca}^{2+}$  content and CEC (Figure 9b,c); *Bradyrhizobium* sp. was associated with *Pseudomonas* sp. (Figure 9b); *Trichoderma* sp. was associated with macroporosity (Figure 9b,c); and *Bacillus* sp. was associated with EC, biodiversity, crop yield, and NDVI (Figure 9b,c). On the other hand, *Macrophomina* sp., *Fusarium* sp. and *Aspergillus* sp. were associated with high PR, an indicator of soil compaction. In addition, the imbalance in lime and fertilization expressed by high soil pH in water and high P content concentrate in a shallow layer affected these plant pathogenic organisms. These results reinforce the notion that soil attributes are an important driver of soil biota and that they could be managed at the farming level to support a diversity of organisms that are plant-growth promoters. However, further studies are required to more fully understand these relationships.

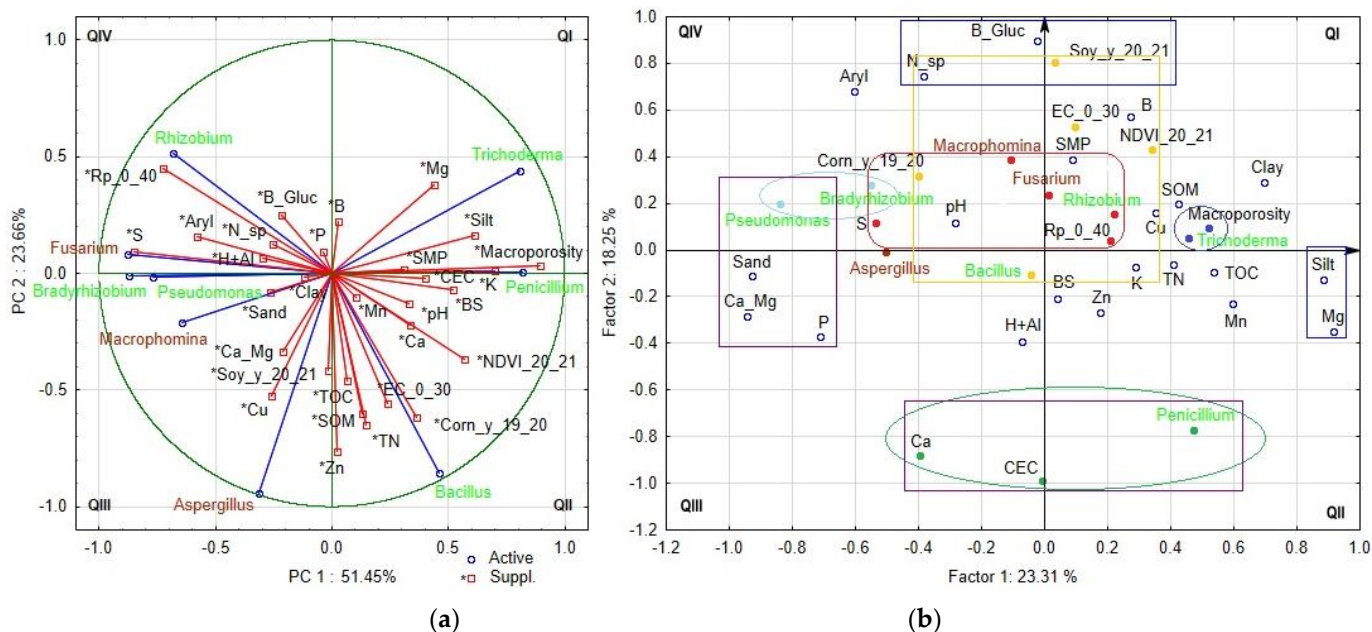
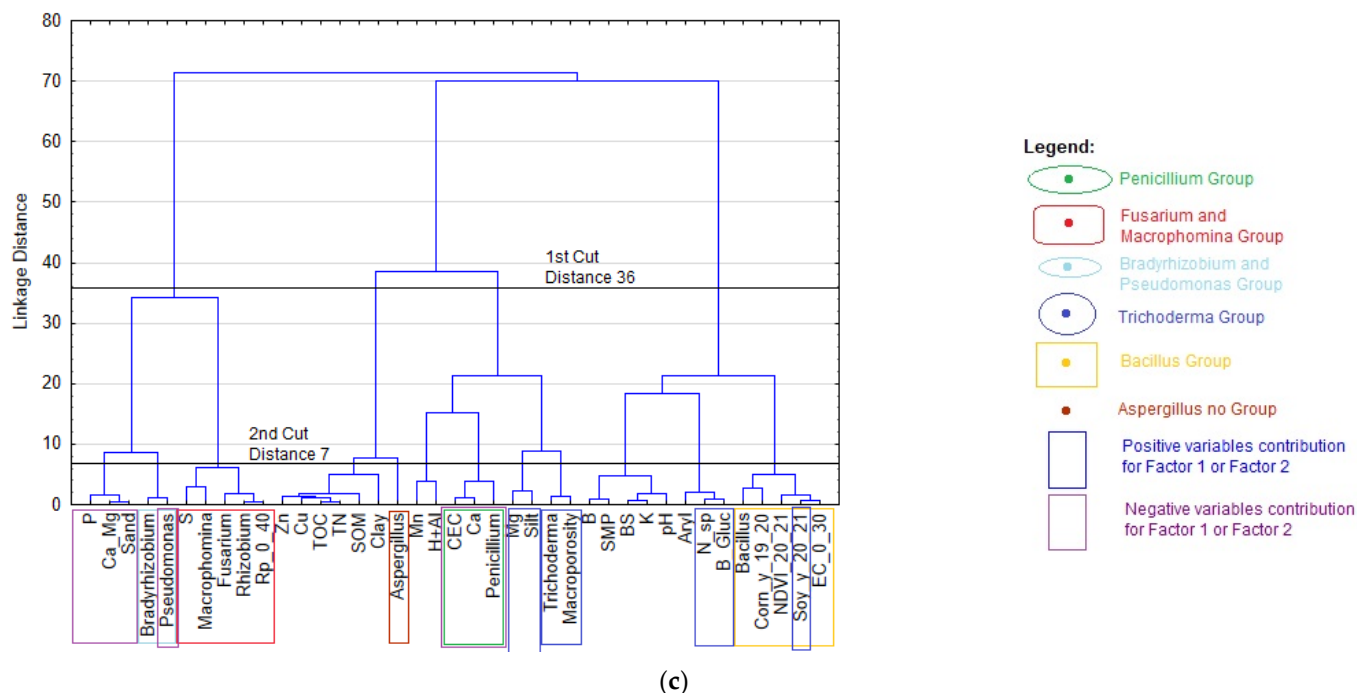


Figure 9. Cont.



**Figure 9.** (a) Projection of the dispersion of variables by principal components analysis (PCA), among most abundant genera of soil microorganisms classified as pathogens and beneficial to plant growth evaluated by molecular analysis of DNA, soil attributes and crop yield growth in varying yield environments under conservation agriculture in Southern Brazil (S-2 field) Não-Me-Toque, RS. Proportion of genera *Penicillium*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Trichoderma*, *Bradyrhizobium*, *Rhizobium*, *Fusarium*, *Macrophomina* and *Aspergillus* in the soil microbiome were taken as the main variables in the analysis. The supplementary variables (\*) were: soybean crop grain yield of the 2020/21 season (Soy\_y\_20\_21); corn crop grain yield of the 2019/20 season (Corn\_y\_19\_20); normalized difference vegetation index (NDVI\_20\_21), species number in the soil by molecular analysis (N\_sp);  $\beta$ -glucosidase (B\_Gluc) and arylsulfatase (Aryl) soil enzyme activity; sand; silt; clay; total nitrogen (TN); total organic carbon (TOC); potential of hydrogen (pH); pH SMP index (SMP); phosphorus (P); potassium (K<sup>+</sup>); soil organic matter (SOM); calcium (Ca<sup>2+</sup>); magnesium (Mg<sup>2+</sup>); cation exchange capacity (CEC); potential acidity (H+Al); bases saturation (BS); sulphur (S); zinc (Zn<sup>2+</sup>); copper (Cu<sup>2+</sup>); boron (B); manganese (Mn<sup>2+</sup>); calcium/magnesium relation (Ca\_Mg); soil electrical conductivity of 0–0.30 m depth (EC\_0\_30); soil penetration resistance, average of 0–0.40 m depth (PR\_0\_40), and macroporosity of 0.05–0.10 m; (b) dispersion of variables and (c) cluster analysis according to their contribution to the formation of Factors 1 and 2;  $n = 6$ .

#### 4. Conclusions

The  $\beta$ -glucosidase and arylsulfatase enzyme activity were efficient indicators of soil biodiversity under CA. In addition, the activity of these enzymes serves as an efficient tool to distinguish low yield environments from high yield environments within fields.

In general, fine soil particles (clay and silt), high CEC, high Ca<sup>2+</sup> content, high Ca<sup>2+</sup>/Mg<sup>2+</sup> ratio, high TOC, TN and SOM were promoters of  $\beta$ -glucosidase and arylsulfatase soil enzyme activity in the fields of the main Brazilian agro-ecoregions. On the other hand, soil pH in water (>6.5), high sand content, high P content concentrated in a shallow layer, high temperature, low Cu<sup>2+</sup> and Mn<sup>2+</sup> availability decreased the activity of these enzymes.

A large proportion of data points investigated (40%) had low SOM, TOC and TN content, creating conditions that were associated with low enzyme activity and restricted biodiversity. These results reinforce the view that the application of the three interlinked principles of CA operate synergistically to build and sustain soil health in production systems. In addition, imbalance in soil correction and fertilization input affects soil enzyme activity. The overuse of these inputs could result in high soil pH in water, high phosphorus concentration in specific soil depth, low copper and manganese availability, narrow Ca<sup>2+</sup>/Mg<sup>2+</sup> ratio, and high Mg<sup>2+</sup> saturation that together with sandy texture and high temperature were associated with low enzyme activity. On the other hand, low or lack of use of these inputs could result in low Ca<sup>2+</sup> and Mg<sup>2+</sup> content, low soil pH in water,

high Al<sup>3+</sup> content, low base saturation and CEC that were associated with low SOM content and low TOC and TN that were also linked to low enzyme activity.

Through the soil microbiome characterization, it was possible to add a new data layer that, together with data on soil and plant attributes, helped to explain the varying yield environments within a production field. In our study, high yield environments had a more diverse soil microbial community with a higher presence of biota that promote plant growth (*Bacillus* sp., *Penicillium* sp., *Trichoderma* sp., *Pseudomonas* sp., *Bradyrhizobium* sp. and *Rhizobium* sp.). In the low yield environments, there was a higher presence of *Fusarium* sp. and *Macrophomina* sp. that were negatives for plant growth. These pathogenic organisms were associated with the presence of high soil penetration resistance and low microbiota diversity as a consequence of soil compaction.

It is concluded that applying the three integrated principles of CA with a focus on crop rotation and cover crops in the cropping system results in enhancement of soil health and crop productivity. The key drivers in this soil health regeneration process are the restoration of soil organic matter and total nitrogen content through crop diversification, calibrated correction of plant nutrients with fertilization that focuses on increased Ca<sup>2+</sup> content, avoidance of soil compaction and stimulation of plant root growth that will support plant-growth promoting microorganisms and a diverse soil biota community.

**Author Contributions:** Conceptualization, J.H.P., T.J.C.A. and A.K.; methodology, J.H.P., T.J.C.A. and J.A.A.A.; validation, J.H.P., T.J.C.A. and A.K.; formal analysis, J.H.P. and L.d.P.A.; investigation, J.H.P. and T.J.C.A.; resources, T.J.C.A. and J.A.A.A.; writing—original draft preparation, J.H.P. and T.J.C.A.; writing—review and editing, J.H.P., T.J.C.A. and A.K.; visualization, J.H.P., T.J.C.A. and A.K.; supervision, J.H.P. and T.J.C.A.; project administration, T.J.C.A. and J.H.P.; funding acquisition, T.J.C.A. and J.A.A.A. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

**Funding:** Aquarius Project and ABDI (Agência Brasileira de Desenvolvimento Industrial) Agro 4.0 Edital 003/2020.

**Acknowledgments:** We thank Aquarius Project, Stara, Cotrijal, Drakkar Solos Consultoria, Biome Markers, ABDI (Agência Brasileira de Desenvolvimento Industrial) Agro 4.0 Edital 003/2020 and CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) and CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) for scholarships to the first (J.H.P.) and second author (T.J.C.A.).

**Conflicts of Interest:** The authors declare no conflict of interest.

## References

1. Kassam, A.; Friedrich, T.; Shaxson, F.; Pretty, J. The Spread of Conservation Agriculture: Justification, Sustainability and Uptake. *Int. J. Agric. Sustain.* **2009**, *7*, 292–320, doi:10.3763/ijas.2009.0477.
2. Shaxson, T.F. Re-Thinking the Conservation of Carbon, Water and Soil: A Different Perspective. *Agron. Sustain. Dev.* **2006**, *26*, 9–19, doi:10.1051/agro:2005054.
3. Leal, O.A.; Amado, T.J.C.; Fiorin, J.E.; Keller, C.; Reimche, G.B.; Rice, C.W.; Nicoloso, R.S.; Bortolotto, R.P.; Schwalbert, R. Linking Cover Crop Residue Quality and Tillage System to CO<sub>2</sub>-C Emission, Soil C and N Stocks and Crop Yield Based on a Long-Term Experiment. *Agronomy* **2020**, *10*, 1848, doi:10.3390/agronomy10121848.
4. Doran, J.W.; Zeiss, M. Soil Health and Sustainability: Managing the Biotic Component of Soil Quality. *Appl. Soil Ecol.* **2000**, *15*, 3–11.
5. Shah, K.K.; Tripathi, S.; Tiwari, I.; Shrestha, J.; Modi, B.; Paudel, N.; Das, B.D. Role of Soil Microbes in Sustainable Crop Production and Soil Health: A Review. *AST* **2021**, *13*, 109–118, doi:10.15547/ast.2021.02.019.
6. Kassam, A.; Friedrich, T.; Derpsch, R. Global Spread of Conservation Agriculture. *Int. J. Environ. Stud.* **2019**, *76*, 29–51, doi:10.1080/00207233.2018.1494927.
7. Pires, C.A.B.; Amado, T.J.C.; Reimche, G.; Schwalbert, R.; Sarto, M.V.M.; Nicoloso, R.S.; Fiorin, J.E.; Rice, C.W. Diversified Crop Rotation with No-till Changes Microbial Distribution with Depth and Enhances Activity in a Subtropical Oxisol. *Eur. J. Soil Sci.* **2020**, *71*, 1173–1187, doi:10.1111/ejss.12981.
8. Mendes, I.C.; Sousa, D.M.G.; Dantas, O.D.; Lopes, A.A.C.; Junior, F.B.R.; Oliveira, M.I.; Chaer, G.M. Soil Quality and Grain Yield: A Win–Win Combination in Clayey Tropical Oxisols. *Geoderma* **2021**, *388*, 114880, doi:10.1016/j.geoderma.2020.114880.
9. Doran, J.W.; Parkin, T.B. Defining and Assessing Soil Quality. In *SSSA Special Publications*; Doran, J.W., Coleman, D.C., Bezdicek, D.F., Stewart, B.A., Eds.; Soil Science Society of America and American Society of Agronomy: Madison, WI, USA, 1994; pp. 1–21, ISBN 978-0-89118-930-5.
10. Garbisu, C.; Alkorta, I.; Epelde, L. Assessment of Soil Quality Using Microbial Properties and Attributes of Ecological Relevance. *Appl. Soil Ecol.* **2011**, *49*, 1–4, doi:10.1016/j.apsoil.2011.04.018.

11. Kremer, R.J. Biotechnology Impacts on Soil and Environmental Services. In *Soil Health and Intensification of Agroecosystems*; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, 2017; pp. 353–375, ISBN 978-0-12-805317-1.
12. Van Bruggen, A.H.C.; Semenov, A.M.; van Diepeningen, A.D.; de Vos, O.J.; Blok, W.J. Relation between Soil Health, Wave-like Fluctuations in Microbial Populations, and Soil-Borne Plant Disease Management. *Eur. J. Plant Pathol.* **2006**, *115*, 105–122, doi:10.1007/s10658-005-1250-8.
13. Tripathi, S.; Srivastava, P.; Devi, R.S.; Bhadouria, R. Influence of synthetic fertilizers and pesticides on soil health and soil microbiology. In *Agrochemicals Detection, Treatment and Remediation: Pesticides and Chemical Fertilizers*; Prasad, M.N.V., Ed.; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, 2020; pp. 25–54, ISBN 978-0-08-103017-2.
14. Khan, N.; Bano, A.M.D.; Babar, A. Impacts of Plant Growth Promoters and Plant Growth Regulators on Rainfed Agriculture. *PLoS ONE* **2020**, *15*, e0231426, doi:10.1371/journal.pone.0231426.
15. Mendes, I.C.; Souza, D.M.G.; Reis Junior, F.B.; Lopes, A.A.C. *Bioanálise de Solo: Como Acessar e Interpretar a Saúde Do Solo*; Embrapa: Planaltina, Brazil, 2018.
16. Van Bruggen, A.H.C.; Grünwald, N.J.; Bolda, M. Cultural Methods and Soil Nutrient Status in Low and High Input Agricultural Systems, as They Affect Rhizoctonia Species. In *Rhizoctonia Species: Taxonomy, Molecular Biology, Ecology, Pathology and Disease Control*; Sneh, B., Jabaji-Hare, S., Neate, S., Dijst, G., Eds.; Springer: Dordrecht, The Netherlands, 1996; pp. 407–421, ISBN 978-90-481-4597-3.
17. Toor, M.D.; Adnan, M. Role of Soil Microbes in Agriculture, A Review. *J. Biog. Sci. Res.* **2020**, doi:10.46718/JBGRS.2020.04.000091.
18. de Carvalho Mendes, I.; de Souza, L.M.; de Sousa, D.M.G.; de Castro Lopes, A.A.; dos Reis Junior, F.B.; Lacerda, M.P.C.; Malaquias, J.V. Critical Limits for Microbial Indicators in Tropical Oxisols at Post-Harvest: The FERTBIO Soil Sample Concept. *Appl. Soil Ecol.* **2019**, *139*, 85–93, doi:10.1016/j.apsoil.2019.02.025.
19. Alves de Castro Lopes, A.; Gomes de Sousa, D.M.; Chaer, G.M.; Bueno dos Reis Junior, F.; Goedert, W.J.; de Carvalho Mendes, I. Interpretation of Microbial Soil Indicators as a Function of Crop Yield and Organic Carbon. *Soil Sci. Soc. Am. J.* **2013**, *77*, 461–472, doi:10.2136/sssaj2012.0191.
20. Mendes, I.C.; Tormena, C.A.; Cherubin, M.R.; Karlen, D.L. Soil health assessment and maintenance in Central and South-Central Brazil. In *Burleigh Dodds Series in Agricultural Science*; Reicosky, D., Ed.; Burleigh Dodds Science Publishing: Cambridge, UK, 2018; Volume 2, pp. 379–415, ISBN 978-1-78676-192-7.
21. Lopes, A.A.C.; Sousa, D.M.G.; dos Reis, F.B.; Figueiredo, C.C.; Malaquias, J.V.; Souza, L.M.; Mendes, I.C. Temporal Variation and Critical Limits of Microbial Indicators in Oxisols in the Cerrado, Brazil. *Geoderma Reg.* **2018**, *12*, 72–82, doi:10.1016/j.geodrs.2018.01.003.
22. Pott, L.P.; Amado, T.J.C.; Schwalbert, R.A.; Gebert, F.H.; Reimche, G.B.; Pes, L.Z.; Ciampitti, I.A. Effect of Hairy Vetch Cover Crop on Maize Nitrogen Supply and Productivity at Varying Yield Environments in Southern Brazil. *Sci. Total Environ.* **2021**, *759*, 144313, doi:10.1016/j.scitotenv.2020.144313.
23. Pott, L.P.; Amado, T.J.C.; Leal, O.A.; Ciampitti, I.A. Mitigation of Soil Compaction for Boosting Crop Productivity at Varying Yield Environments in Southern Brazil. *Eur. J. Soil Sci.* **2019**, *71*, 1157–1172, doi:10.1111/ejss.12880.
24. Corassa, G.M.; Santi, A.L.; Amado, T.J.C.; Reimche, G.B.; Gaviraghi, R.; Bisognin, M.B.; Pires, J.L.F. Performance of Soybean Varieties Differs According to Yield Class: A Case Study from Southern Brazil. *Precis. Agric.* **2019**, *20*, 520–540, doi:10.1007/s11119-018-9595-0.
25. Schwalbert, R.A.; Amado, T.J.C.; Reimche, G.B.; Gebert, F. Fine-Tuning of Wheat (*Triticum aestivum* L.) Variable Nitrogen Rate by Combining Crop Sensing and Management Zones Approaches in Southern Brazil. *Precis. Agric.* **2019**, *20*, 56–77, doi:10.1007/s11119-018-9581-6.
26. Soil Survey, Staff. *Keys to Soil Taxonomy*, 12th ed.; Soil Conservation Service: Washington, DC, USA, 2014.
27. Tabatabai, M.A. Soil enzymes. In *Methods of Soil Analysis. Part 2. Microbiological and Biochemical Properties*; Soil Science Society of America: Madison, WI, USA, 1994; Volume 5, pp. 775–833.
28. Embrapa. *Manual de Métodos de Análise de Solo*, 2nd ed.; Embrapa Solos: Rio de Janeiro, Brazil, 2011; Volume 1.
29. Tedesco, M.J.; Gianello, C.; Bohnen, H.; Volkweiss, S.J. *Análises de Solo, Plantas e Outros Materiais*, 2nd ed.; Universidade Federal do Rio Grande do Sul: Porto Alegre, Brazil, 1995.
30. Teixeira, P.C.; Donagemma, G.K.; Fontana, A.; Teixeira, W.G. *Manual de Métodos de Análise de Solo*, 3rd ed.; Embrapa: Brasília, Brazil, 2017.
31. Imam, N.; Belda, I.; Duehl, A.J.; Doroghazi, J.R.; Almonacid, D.E.; Thomas, V.P.; Acedo, A. Soil Microbial Composition and Structure Allow Assessment of Biological Product Effectiveness and Crop Yield Prediction. *BioRxiv* **2021**, doi:10.1101/2021.02.09.430373.
32. Vicini, L.; Souza, A.M.; Morales, F.E.C.; Souza, F.M. *Técnicas Multivariadas: Teorias e Aplicações No Software Statistica*; Editora da UFSM: Santa Maria, CA, USA, 2018.
33. Hair, J.F.; Black, W.C.; Babin, B.J.; Anderson, R.E.; Tathan, R.L. *Análise Multivariada de Dados*, 5th ed.; Bookmam: Porto Alegre, Brazil, 2005.
34. Ji, B.; Hu, H.; Zhao, Y.; Mu, X.; Liu, K.; Li, C. Effects of Deep Tillage and Straw Returning on Soil Microorganism and Enzyme Activities. *Sci. World J.* **2014**, *2014*, 451493, doi:10.1155/2014/451493.
35. Elliott, E.T.; Anderson, R.V.; Coleman, D.C.; Cole, C.V. Habitable Pore Space and Microbial Trophic Interactions. *Oikos* **1980**, *35*, 327, doi:10.2307/3544648.
36. Alvarez, G.; Chaussod, R.; Cluzeau, D. *Biological Activities and Soil Fertility, Interest and Limitations of Analytical Methods Available*, 1st ed.; Itab: London, UK, 2002.
37. Soares, M.R.; Alleoni, L.R.F.; Vidal-Torrado, P.; Cooper, M. Mineralogy and Ion Exchange Properties of the Particle Size Fractions of Some Brazilian Soils in Tropical Humid Areas. *Geoderma* **2005**, *125*, 355–367, doi:10.1016/j.geoderma.2004.09.008.
38. Bayer, C.; Mielniczuk, J.; Amado, T.J.C.; Martin-Neto, L.; Fernandes, S.V. Organic Matter Storage in a Sandy Clay Loam Acrisol Affected by Tillage and Cropping Systems in Southern Brazil. *Soil Tillage Res.* **2000**, *54*, 101–109, doi:10.1016/S0167-1987(00)00090-8.

39. de Oliveira Ferreira, A.; Amado, T.J.C.; Rice, C.W.; Ruiz Diaz, D.A.; Briedis, C.; Inagaki, T.M.; Gonçalves, D.R.P. Driving Factors of Soil Carbon Accumulation in Oxisols in Long-Term No-till Systems of South Brazil. *Sci. Total Environ.* **2018**, *622–623*, 735–742, doi:10.1016/j.scitotenv.2017.12.019.
40. Xu, Z.; Yu, G.; Zhang, X.; Ge, J.; He, N.; Wang, Q.; Wang, D. The Variations in Soil Microbial Communities, Enzyme Activities and Their Relationships with Soil Organic Matter Decomposition along the Northern Slope of Changbai Mountain. *Appl. Soil Ecol.* **2015**, *86*, 19–29, doi:10.1016/j.apsoil.2014.09.015.
41. Thor, K. Calcium—Nutrient and Messenger. *Front. Plant Sci.* **2019**, *10*, 440, doi:10.3389/fpls.2019.00440.
42. Dalla Nora, D.; Amado, T.J.C.; Bortolotto, R.P.; Ferreira, A.O.; Reichardt, K.; Santi, A.L. Subsoil Chemical Amelioration and Crop Yields under Continuous Long-Term No-till in a Subtropical Oxisol. *Afr. J. Agric. Res.* **2014**, *9*, 3338–3349.
43. Mankolo, R.; Reddy, C.; Senwo, Z.; Nyakatawa, E.; Sajjala, S. Soil Biochemical Changes Induced by Poultry Litter Application and Conservation Tillage under Cotton Production Systems. *Agronomy* **2012**, *2*, 187–198, doi:10.3390/agronomy2030187.
44. Tiecher, T.; Martins, A.P.; Peretto, E.J.S.; Fink, J.R.; Santos, L.S.; Denardin, L.G.O.; Tiecher, T.L. *Evolução e Estado Da Fertilidade Do Solo No Norte Do Rio Grande Do Sul e Sudoeste de Santa Catarina*; UFRGS: Porto Alegre, Brazil, 2016.
45. Bayer, C.; Dieckow, J.; Amado, T.J.C.; Eltz, F.L.F.; Vieira, F.C.B. Cover Crop Effects Increasing Carbon Storage in a Subtropical No-Till Sandy Acrisol. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* **2009**, *40*, 1499–1511, doi:10.1080/00103620902820365.
46. FAO. *State of Knowledge of Soil Biodiversity-Status, Challenges and Potentialities*; FAO: Rome, Italy, 2020; ISBN 978-92-5-133582-6.
47. Bardgett, R.D.; Hobbs, P.J.; Frostegard, A. Changes in Soil Fungal:Bacterial Biomass Ratios Following Reductions in the Intensity of Management of an Upland Grassland. *Biol. Fertil. Soils* **1996**, *22*, 261–264.
48. Lange, M.; Habekost, M.; Eisenhauer, N.; Roscher, C.; Bessler, H.; Engels, C.; Oelmann, Y.; Scheu, S.; Wilcke, W.; Schulze, E.-D.; et al. Biotic and Abiotic Properties Mediating Plant Diversity Effects on Soil Microbial Communities in an Experimental Grassland. *PLoS ONE* **2014**, *9*, e96182, doi:10.1371/journal.pone.0096182.
49. Chen, C.; Chen, H.Y.H.; Chen, X.; Huang, Z. Meta-Analysis Shows Positive Effects of Plant Diversity on Microbial Biomass and Respiration. *Nat. Commun.* **2019**, *10*, 1332, doi:10.1038/s41467-019-09258-y.
50. de Vargas, R.L.; Schuch, L.O.B.; Barros, W.S.; Rigo, G.A.; Szareski, V.J.; Carvalho, I.R.; Pimentel, J.R.; Troyjack, C.; Jaques, L.B.A.; de Souza, V.Q.; et al. Macronutrients and Micronutrients Variability in Soybean Seeds. *JAS* **2018**, *10*, 209, doi:10.5539/jas.v10n4p209.
51. Dalla Nora, D.; Amado, T.J.C. Improvement in Chemical Attributes of Oxisol Subsoil and Crop Yields under No-Till. *Agron. J.* **2013**, *105*, 1393–1403, doi:10.2134/agronj2013.0031.
52. Hansel, F.D.; Amado, T.J.C.; Bortolotto, R.P.; Trindade, B.S.; Hansel, D.S.S. Influence of Different Phosphorus Sources on Fertilization Efficiency. *Rev. Bras. Tecnol. Apl. Ciênc. Agrár.* **2014**, *7*, 103–111, doi:10.5935/PAeT.V7.N1.12.
53. de Souza Nunes, R.; de Sousa, D.M.G.; Goedert, W.J.; de Oliveira, L.E.Z.; Pavinato, P.S.; Pinheiro, T.D. Distribution of Soil Phosphorus Fractions as a Function of Long-Term Soil Tillage and Phosphate Fertilization Management. *Front. Earth Sci.* **2020**, *8*, 350, doi:10.3389/feart.2020.00350.
54. Hansel, F.D.; Amado, T.J.C.; Ruiz Diaz, D.A.; Rosso, L.H.M.; Nicoloso, F.T.; Schorr, M. Phosphorus Fertilizer Placement and Tillage Affect Soybean Root Growth and Drought Tolerance. *Agron. J.* **2017**, *109*, 2936–2944, doi:10.2134/agronj2017.04.0202.
55. Bao, Z.; Matsushita, Y.; Morimoto, S.; Hoshino, Y.T.; Suzuki, C.; Nagaoka, K.; Takenaka, M.; Murakami, H.; Kuroyanagi, Y.; Urashima, Y.; et al. Decrease in Fungal Biodiversity along an Available Phosphorous Gradient in Arable Andosol Soils in Japan. *Can. J. Microbiol.* **2013**, *59*, 368–373, doi:10.1139/cjm-2012-0612.
56. Yang, G.; Liu, N.; Lu, W.; Wang, S.; Kan, H.; Zhang, Y.; Xu, L.; Chen, Y. The Interaction between Arbuscular Mycorrhizal Fungi and Soil Phosphorus Availability Influences Plant Community Productivity and Ecosystem Stability. *J. Ecol.* **2014**, *102*, 1072–1082, doi:10.1111/1365-2745.12249.
57. Treseder, K.K. A Meta-analysis of Mycorrhizal Responses to Nitrogen, Phosphorus, and Atmospheric CO<sub>2</sub> in Field Studies. *New Phytol.* **2004**, *164*, 347–355, doi:10.1111/j.1469-8137.2004.01159.x.
58. Abreu, C.H., Jr.; Muraoka, T.; Lavorante, A.F. Relationship between Acidity and Chemical Properties of Brazilian Soils. *Sci. Agric. (Piracicaba, Braz.)* **2003**, *60*, 337–343, doi:10.1590/S0103-90162003000200019.
59. Msimbira, L.A.; Smith, D.L. The Roles of Plant Growth Promoting Microbes in Enhancing Plant Tolerance to Acidity and Alkalinity Stresses. *Front. Sustain. Food Syst.* **2020**, *4*, 106, doi:10.3389/fsufs.2020.00106.
60. Rousk, J.; Bååth, E.; Brookes, P.C.; Lauber, C.L.; Lozupone, C.; Caporaso, J.G.; Knight, R.; Fierer, N. Soil Bacterial and Fungal Communities across a pH Gradient in an Arable Soil. *ISME J.* **2010**, *4*, 1340–1351, doi:10.1038/ismej.2010.58.
61. Shen, C.; Shi, Y.; Fan, K.; He, J.-S.; Adams, J.M.; Ge, Y.; Chu, H. Soil pH Dominates Elevational Diversity Pattern for Bacteria in High Elevation Alkaline Soils on the Tibetan Plateau. *FEMS Microbiol. Ecol.* **2019**, *95*, fiz003, doi:10.1093/femsec/fiz003.
62. Stark, S.; Männistö, M.K.; Eskelinen, A. Nutrient Availability and pH Jointly Constrain Microbial Extracellular Enzyme Activities in Nutrient-Poor Tundra Soils. *Plant Soil* **2014**, *383*, 373–385, doi:10.1007/s11104-014-2181-y.
63. Donagemma, G.K.; de Freitas, P.L.; de Carvalho Balieiro, F.; Fontana, A.; Spera, S.T.; Lumbreras, J.F.; Viana, J.H.M.; de Araújo Filho, J.C.; dos Santos, F.C.; de Albuquerque, M.R.; et al. Characterization, Agricultural Potential, and Perspectives for the Management of Light Soils in Brazil. *Pesq. Agropec. Bras.* **2016**, *51*, 1003–1020, doi:10.1590/s0100-204x2016000900001.
64. Roques, S.; Kendall, S.; Smith, K.; Newell Price, P.; Berry, P. Review of the Non-NPKS Nutrient Requirements of UK Cereals and Oilseed Rape. *HGCA Res. Rev.* **2013**, *78*, 9-108.
65. García-Mina, J.M.; Antolín, M.C.; Sanchez-Diaz, M. Metal-Humic Complexes and Plant Micronutrient Uptake: A Study Based on Different Plant Species Cultivated in Diverse Soil Types. *Plant Soil* **2004**, *258*, 57–68, doi:10.1023/B:PLSO.0000016509.56780.40.
66. Alejandro, S.; Höller, S.; Meier, B.; Peiter, E. Manganese in Plants: From Acquisition to Subcellular Allocation. *Front. Plant Sci.* **2020**, *11*, 300, doi:10.3389/fpls.2020.00300.



67. Lorenz, N.; McSpadden Gardener, B.B.; Lee, N.R.; Ramsier, C.; Dick, R.P. Soil Enzyme Activities Associated with Differential Outcomes of Contrasting Approaches to Soil Fertility Management in Corn and Soybean Fields. *AEES* **2020**, *8*, 517–525, doi:10.12691/aees-8-6-26.
68. Bai, X.; Dippold, M.A.; An, S.; Wang, B.; Zhang, H.; Loepmann, S. Extracellular Enzyme Activity and Stoichiometry: The Effect of Soil Microbial Element Limitation during Leaf Litter Decomposition. *Ecol. Indic.* **2021**, *121*, 107200, doi:10.1016/j.ecolind.2020.107200.
69. Stout, J.D. The Role of Protozoa in Nutrient Cycling and Energy Flow. In *Advances in Microbial Ecology*; Alexander, M., Ed.; Springer: Boston, MA, USA, 1980; Volume 4.
70. Clarholm, M. Interactions of Bacteria, Protozoa and Plants Leading to Mineralization of Soil Nitrogen. *Soil Biol. Biochem.* **1985**, *17*, 181–187, doi:10.1016/0038-0717(85)90113-0.
71. Ozimek, E.; Hanaka, A. Mortierella Species as the Plant Growth-Promoting Fungi Present in the Agricultural Soils. *Agriculture* **2020**, *11*, 7, doi:10.3390/agriculture11010007.
72. Glick, B.R.; Todorovic, B.; Czarny, J.; Cheng, Z.; Duan, J.; McConkey, B. Promotion of Plant Growth by Bacterial ACC Deaminase. *Crit. Rev. Plant Sci.* **2007**, *26*, 227–242, doi:10.1080/07352680701572966.
73. de Souza, R.; Ambrosini, A.; Passaglia, L.M.P. Plant Growth-Promoting Bacteria as Inoculants in Agricultural Soils. *Genet. Mol. Biol.* **2015**, *38*, 401–419, doi:10.1590/S1415-475738420150053.
74. Radhakrishnan, R.; Kang, S.-M.; Baek, I.-Y.; Lee, I.-J. Characterization of Plant Growth-Promoting Traits of *Penicillium* Species against the Effects of High Soil Salinity and Root Disease. *J. Plant Interact.* **2014**, *9*, 754–762, doi:10.1080/17429145.2014.930524.
75. Shores, M.; Harman, G.E.; Mastouri, F. Induced Systemic Resistance and Plant Responses to Fungal Biocontrol Agents. *Annu. Rev. Phytopathol.* **2010**, *48*, 21–43, doi:10.1146/annurev-phyto-073009-114450.
76. Ethur, L.Z.; Blume, E.; Muniz, M.F.B.; Flores, M.G.V. Seleção de Antagonistas Fúngicos a *Fusarium Solani* e *Fusarium Oxysporum* Em Substrato Comercial Para Mudanças. *Cienc. Rural* **2007**, *37*, 1801–1804, doi:10.1590/S0103-84782007000600047.
77. Vanlauwe, B.; Hungria, M.; Kanampiu, F.; Giller, K.E. The Role of Legumes in the Sustainable Intensification of African Smallholder Agriculture: Lessons Learnt and Challenges for the Future. *Agric. Ecosyst. Environ.* **2019**, *284*, 106583, doi:10.1016/j.agee.2019.106583.
78. Leandro, L.F.S.; Eggenberger, S.; Chen, C.; Williams, J.; Beattie, G.A.; Liebman, M. Cropping System Diversification Reduces Severity and Incidence of Soybean Sudden Death Syndrome Caused by *Fusarium virguliforme*. *Plant Dis.* **2018**, *102*, 1748–1758, doi:10.1094/PDIS-11-16-1660-RE.
79. Costa, S.S.; Matos, K.S.; Tessmann, D.J.; Seixas, C.D.S.; Pfenning, L.H. *Fusarium paranaense* sp. nov., a Member of the *Fusarium solani* Species Complex Causes Root Rot on Soybean in Brazil. *Fungal Biol.* **2016**, *120*, 51–60, doi:10.1016/j.funbio.2015.09.005.
80. Ranzi, C.; Camera, J.N.; Deuner, C.C. Influence of Continuous Cropping on Corn and Soybean Pathogens. *Summa Phytopathol.* **2017**, *43*, 14–19, doi:10.1590/0100-5405/2150.
81. Hartman, G.L.; Leandro, L.F.; Rupe, J.C. Sudden death syndrome. In *Compendium of Soybean Diseases and Pests*; Hartman, G.L., Rupe, J.C., Sikora, E.J., Domier, L.L., Davis, J.A., Steffey, K.L., Eds.; American Phytopathological Society: St. Paul, MN, USA, 2015; pp. 88–90.
82. Alam, S.S.; Sakamoto, K.; Inubushi, K. Biocontrol Efficiency of *Fusarium* Wilt Diseases by a Root-Colonizing Fungus *Penicillium* sp. *Soil Sci. Plant Nutr.* **2011**, *57*, 204–212, doi:10.1080/00380768.2011.564996.
83. Hariprasad, P.; Divakara, S.T.; Niranjana, S.R. Isolation and Characterization of Chitinolytic Rhizobacteria for the Management of *Fusarium* Wilt in Tomato. *Crop Prot.* **2011**, *30*, 1606–1612, doi:10.1016/j.cropro.2011.02.032.
84. Saikia, R.; Singh, K.; Arora, D.K. Suppression of *Fusarium* Wilt and Charcoal Rot of Chickpea by *Pseudomonas Aeruginosa* RsB29. *Indian J. Microbiol.* **2006**, *44*, 181–184.
85. Dimkpa, C.O.; Merten, D.; Svatoš, A.; Büchel, G.; Kothe, E. Siderophores Mediate Reduced and Increased Uptake of Cadmium by *Streptomyces Tendae* F4 and Sunflower (*Helianthus Annuus*), Respectively. *J. Appl. Microbiol.* **2009**, *107*, 1687–1696, doi:10.1111/j.1365-2672.2009.04355.x.
86. Grover, M.; Ali, S.Z.; Sandhya, V.; Rasul, A.; Venkateswarlu, B. Role of Microorganisms in Adaptation of Agriculture Crops to Abiotic Stresses. *World J. Microbiol. Biotechnol.* **2011**, *27*, 1231–1240, doi:10.1007/s11274-010-0572-7.
87. Glick, B.R. Plant Growth-Promoting Bacteria: Mechanisms and Applications. *Scientifica* **2012**, *2012*, 963401, doi:10.6064/2012/963401.
88. Girardello, V.C.; Amado, T.J.C.; Santi, A.L.; Cherubin, M.R.; Kunz, J.; de Gregori Teixeira, T. Resistência à Penetração, Eficiência de Escarificadores Mecânicos e Produtividade Da Soja Em Latossolo Argiloso Manejado Sob Plantio Direto de Longa Duração. *Rev. Bras. Ciênc. Solo* **2014**, *38*, 1234–1244, doi:10.1590/S0100-06832014000400020.
89. Cruz, D.R.; Leandro, L.F.S.; Mayfield, D.A.; Meng, Y.; Munkvold, G.P. Effects of Soil Conditions on Root Rot of Soybean Caused by *Fusarium graminearum*. *Phytopathology* **2020**, *110*, 1693–1703, doi:10.1094/PHYTO-02-20-0052-R.
90. Leandro, L.F.S.; Robertson, A.E.; Mueller, D.S.; Yang, X.-B. Climatic and Environmental Trends Observed During Epidemic and Non-Epidemic Years of Soybean Sudden Death Syndrome in Iowa. *Plant Health Progress* **2013**, *14*, 18, doi:10.1094/PHP-2013-0529-01-RS.
91. Scherm, H.; Yang, X. Development of Sudden Death Syndrome of Soybean in Relation to Soil Temperature and Soil Water Matric Potential. *Phytopathology* **1996**, *86*, 642, doi:10.1094/Phyto-86-642.

#### 4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A atividade enzimática do solo, em específico das enzimas  $\beta$ -glicosidase e arilsulfatase, demonstraram-se eficientes indicadores da biodiversidade do solo sob AC, distinguindo as agroecorregiões (distintas condições edafoclimáticas), bem como, os YEs dentro dos campos de produção (alto em relação ao baixo potencial) e, deste modo, constituindo-se uma importante ferramenta para verificar o estado da saúde do solo.

Estas enzimas estiveram associadas com uma complexa dinâmica entre os atributos do solo, relevo e clima, onde um conjunto de atributos atuaram como promotores de suas atividades, sendo estes as partículas finas de solo (argila e silte), alta CTC, alto teor de  $\text{Ca}^{2+}$ , alta relação  $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ , alto COT, NT e MOS. Por outro lado, o pH do solo em água (acima de 6.5), alto teor de areia, alto teor de P concentrado em camada superficial, alta temperatura, baixa disponibilidade de  $\text{Cu}^{2+}$  e  $\text{Mn}^{2+}$ , atuaram como detratores e diminuíram a atividade destas enzimas.

O cenário do estudo apresentou uma grande proporção dos pontos investigados (40%) com baixo teor de MOS, COT e NT, os quais também estiveram associados à baixa atividade enzimática e uma biodiversidade restrita. Esses resultados reforçam a visão de que a aplicação dos três princípios interligados da AC opera sinergicamente para construir e sustentar a saúde do solo nos sistemas de produção. Além disso, o desequilíbrio na correção do solo e no aporte de fertilização afeta a atividade enzimática do solo. O uso excessivo desses insumos (corretivos e fertilizantes químicos) pode resultar em alto pH do solo em água, alta concentração de fósforo em profundidade específica do solo, baixa disponibilidade de cobre e manganês, estreita relação  $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$  e alta saturação de  $\text{Mg}^{2+}$  que, juntamente com textura arenosa e alta temperatura, foram associadas a baixa atividade enzimática. Por outro lado, o baixo ou não uso desses insumos pode resultar em baixo teor de  $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{Mg}^{2+}$ , baixo pH do solo em água, alto teor de  $\text{Al}^{3+}$ , baixa saturação por bases e CTC que foram associados a baixo teor de MOS e baixo COT e NT que também foram associados à baixa atividade enzimática.

Através da caracterização do microbioma do solo, foi possível adicionar uma nova camada de dados que, juntamente com dados sobre os atributos do solo e das plantas, ajudaram a explicar os diferentes YEs dentro de um campo de produção. Em nosso estudo, ambientes de alta produtividade apresentaram uma comunidade microbiana do solo mais diversificada com maior presença de biota que promove o crescimento das plantas (*Bacillus* sp., *Penicillium* sp., *Trichoderma* sp., *Pseudomonas* sp., *Bradyrhizobium* sp. e *Rhizobium* sp.). Nos ambientes de

baixa produtividade, houve maior presença de *Fusarium* sp. e *Macrophomina* sp. que foram negativos para o crescimento das plantas. Esses organismos patogênicos foram associados à presença de alta resistência à penetração do solo e baixa diversidade da microbiota como consequência da compactação do solo.

A aplicação dos três princípios integrados da AC com foco na rotação de culturas e culturas de cobertura no sistema de cultivo, resulta em melhoria da saúde do solo e produtividade das culturas. Os principais impulsionadores desse processo de regeneração da saúde do solo são: (1) a restauração da matéria orgânica do solo e do teor de nitrogênio total por meio da diversificação das culturas; (2) correção calibrada dos nutrientes das plantas com fertilização que se concentra no aumento do teor de  $\text{Ca}^{2+}$ ; (3) evitar a compactação do solo e; (4) estimular o crescimento das raízes das plantas que irão suportar microrganismos promotores de crescimento vegetal e uma comunidade diversificada da biota do solo.

Salienta-se que os campos de produção estudados correspondiam a propriedades com produtividades superiores à média nacional e com níveis tecnológicos elevados, sendo referências em suas respectivas regiões, podendo não representar as condições predominantemente encontradas no país. Desse modo, para haver uma maior compreensão da complexa dinâmica existente no sistema solo, são necessários maiores estudos sob amplas variações de níveis tecnológicos das propriedades, condições de manejo de solo e cultivos, em distintos níveis de regionalização e ambientes dentro de campos de produção, principalmente, visando compreender processos-chave entre a microbiota e seus principais *drivers*.

## REFERÊNCIAS

- ADETUNJI, A. T.; LEWU, F. B.; MULIDZI, R. NCUBE, B. The biological activities of  $\beta$ -glucosidase, phosphatase and urease as soil quality indicators: a review. **J. Soil Sci. Plant Nutr.**, vol.17, n.3, p.794-807, 2017.
- ALVAREZ, C. A.; STAPE, J. L.; SENTELHAS, P. C.; GONÇALVES, J. L. M.; SPAROVEK, G. Köppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, 22:711-728, 2013.
- ARAÚJO, A. S. F.; MONTEIRO, R. T. R. Indicadores Biológicos De Qualidade Do Solo. **Biosci. J.**, Uberlândia, v. 23, n. 3, p. 66-75, 2007.
- ARAÚJO, E. C.; URIBE-OPAZO, M. A.; JOHANN, J. A. Análise de agrupamento da variabilidade espacial da produtividade da soja e variáveis agrometeorológicas na região oeste do Paraná. **Engenharia Agrícola**, v. 33, n. 4, pp. 782-795, 2013.
- BAI, X.; DIPPOLD, M. A.; AN, S.; WANG, B.; ZHANG, H.; LOEPPMANN, S. Extracellular Enzyme Activity and Stoichiometry: The Effect of Soil Microbial Element Limitation during Leaf Litter Decomposition. **Ecol. Indic.**, 121, 107200. 2021.
- BALOTA, E. L.; NOGUEIRA, M. A.; MENDES, I. C.; HUNGRIA, M.; FAGOTTI, D. S. L.; MELO, G. M. P.; SOUZA, R. C.; MELO, W. J. Enzimas e seu papel na qualidade do solo. In: **Tópicos em Ciência do Solo**. SBSC, 2013. 8:221-278.
- BANDICK, A. K; DICK, R. P. Field Management Effects on Soil Enzyme Activities. **Soil Biol Biochem**, 31: 1471–79, 1999.
- BRADLEY, P.; DEGENS, P. Decreases in microbial functional diversity do not result in corresponding changes in decomposition under different moisture conditions. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 30, p. 1989-2000, 1998.
- BRUNALE, P. P. M. **Identificação molecular dos micro-organismos cultiváveis contaminantes de Diesel A e Diesel B S500**. 2017. Dissertação (Mestrado em Tecnologias Química e Biológica) - Universidade de Brasília, Brasília, DF, 2017.
- BUOL, S. W. Soils and agriculture in central-west and north Brazil. **Scientia Agricola**. v. 66, p. 697-707, 2009.
- CARDOSO, E. J. B. N.; TSAI, S. M.; NEVES, M. C. P. **Microbiologia do Solo**. Campinas, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1992.
- CASSÁN, F.; CONIGLIO, A.; LÓPEZ, G.; MOLINA, R.; NIEVAS, S.; DE CARLAN, C. L. N.; DONADIO, F.; TORRES, D.; ROSAS, S.; PEDROSA, F. O.; DE SOUZA, E.; ZORITA, M. D.; DE-BASHAN, L.; MORA, V. Everything you must know about Azospirillum and its impact on agriculture and beyond. **Biol. Fertil. Soils**, v. 56, p. 461–479, 2020.
- CHEN, H. Lignocellulose biorefinery feedstock engineering. Amsterdam, **Elsevier**, 2015.
- CORRAR, L. J.; PAULO, E.; DIAS FILHO, J. M. **Análise Multivariada: para os cursos de Administração, Ciências Contábeis e Economia**. São Paulo: Atlas, 344p. 2007.

- CORASSA, G. M. **Automatic section control for planter and variable rate seeding: new approaches to precision planting**. 2018. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, 2018.
- CORDEIRO, M. A. S. **Atributos microbiológicos do solo sob rotação e sequências de culturas em semeadura direta**. 2011. Tese (Doutorado em Agronomia) - UNESP, Jaboticabal, SP, 2011.
- DE BONA, F. D.; BAYER, C.; DIECKOW, J.; BERGAMASCHI, H. Soil quality assessed by carbon management index in a subtropical Acrisol subjected to tillage systems and irrigation. **Soil, Land Care & Environmental Research**, v. 46, p. 469-475, 2008.
- DE SOUZA, R.; AMBROSINI, A.; PASSAGLIA, L. M. P. Plant Growth-Promoting Bacteria as Inoculants in Agricultural Soils. **Genet. Mol. Biol.**, 38, 401–419, 2015.
- DICK, R. P. Soil enzymes activities as indicators of soil quality. In: DORAN, J. W.; COLEMAN, D. C.; BEZDICEK, D. F.; STEWART, B. A. **Defining soil quality for a sustainable environment**. Madison, Soil Science Society of America. (Special Publication, 35). 1994. p.107-124.
- DIMKPA, C.O.; MERTEN, D.; SVATOŠ, A.; BÜCHEL, G.; KOTHE, E. Siderophores Mediate Reduced and Increased Uptake of Cadmium by *Streptomyces Tendae* F4 and Sunflower (*Helianthus Annuus*), Respectively. **J. Appl. Microbiol.**, 107, 1687–1696, 2009.
- DORAN, J. W.; PARKIN, T. B. Defining and assessing soil quality. In: DORAN, J. W.; COLEMAN, D. C.; BEZDICEK, D. F.; STEWART, B. A. **Defining soil quality for a sustainable environment**. Madison. Soil Science Society of America. 1994. p.3-21.
- DORAN, J. W.; ZEISS, M. Soil Health and Sustainability: Managing the Biotic Component of Soil Quality. **Appl. Soil Ecol.**, v. 15, p. 3–11, 2000.
- DOTANIYA, M. L.; APARNA, K.; DOTANIYA, C. K.; SINGH, M.; REGAR, K. L. Role of soil enzymes in sustainable crop production. In: KUDDUS, M. **Enzymes in food biotechnology production, applications, and future prospects**. Amsterdam: Elsevier; 2019. p. 569-89.
- ELSAS, J. D.; BOERSMA, F. G. H. A review of molecular methods to study the microbiota of soil and the mycosphere. **European Journal of Soil Biology**, v. 47:2, p. 77-87, 2011.
- EITELWEIN, M. T.; SANTI, A. L.; GIOTTO, E.; DAMIAN, J. M.; CHERUBIN, M. R.; CORASSA, G. M.; BASSO, C. J.; DELLA FLORA, L. P. Mapeamento da produtividade de grãos e utilização dos mapas. In: SANTI, A. L.; SEBEM, E.; GIOTTO, E.; AMADO, T. J. C. **Agricultura de precisão no Rio Grande do Sul**. 1 ed., Santa Maria, RS. CESPOL. 2016. p. 99-120.
- ELAD, Y.; ZVIELI, Y.; CHET, I. Biological control of *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid by *Trichoderma harzianum*. **Crop Protection**, v. 5, n. 4, p. 288-292, 1986.
- ESEN, A.  $\beta$ -glucosidases: overview. In: ESEN, A.  **$\beta$ -glucosidases and molecular biology**. American Chemical Society, Washington, DC. p. 9-17, 1993.
- ETHUR, L. Z.; BLUME, E.; MUNIZ, M. F. B.; FLORES, M. G. V. Seleção de Antagonistas

Fúngicos a *Fusarium Solani* e *Fusarium Oxysporum* em Substrato Comercial Para Mudas. **Cienc. Rural**, 37, 1801–1804, 2007.

FAO. **State of Knowledge of Soil Biodiversity-Status, Challenges and Potentialities**. FAO: Rome, Italy, 2020, ISBN 978-92-5-133582-6.

FLIS, S.; JONES, J. Sulfur 4R Management and the changing landscape of fertility. **Crop Soils.**, 53:19-22, 2020.

FUKAMI, J.; CERZINI, P.; HUNGRIA, M. *Azospirillum*: benefits that go far beyond biological nitrogen fixation. **AMB Expr.**, 8, 73, 2018.

GANDRA, A. E.; GANDRA, T. K. V.; MELLO, W. S.; GODOI, H. S. Técnicas moleculares aplicadas à microbiologia de alimentos. **Acta Sci. Technol.**, Maringá, v. 30, n. 1, p. 109-118, 2008.

GANESHAMURTHY, A. M.; SINGH, G.; SINGH, N. T. Sulphur status and response of rice to sulphur on some soils of Andaman and Nicobar Islands. **J. Ind. Soc. Soil Sci.**, 43:637-41, 1995.

GARBISU, C.; ALKORTA, I.; EPELFDE, L. Assessment of soil quality using microbial properties and attributes of ecological relevance. **Appl. Soil Ecol.**, 49:1-4, 2011.

GILLER, K.; HIJBEEK, R.; ANDERSSON, J.; SUMBERG, J. Regenerative Agriculture: An agronomic perspective. **Outlook on Agriculture**. v. 50, n. 1, 2021.

GLICK, B.R. Plant Growth-Promoting Bacteria: Mechanisms and Applications. **Scientifica**, 2012, 963401, 2012.

GOMES, L.; SIMÕES, S. J. C.; DALLA NORA, E. L.; DE SOUSA-NETO, E. R.; FORTI, M. C.; OMETTO, J. P. H. B. Agricultural Expansion in the Brazilian Cerrado: Increased Soil and Nutrient Losses and Decreased Agricultural Productivity. **Land**, 8, 12, 2019.

GROVER, M.; ALI, S.Z.; SANDHYA, V.; RASUL, A.; VENKATESWARLU, B. Role of Microorganisms in Adaptation of Agriculture Crops to Abiotic Stresses. **World J. Microbiol. Biotechnol.**, 27, 1231–1240, 2011.

HANDELSMAN, J.; RONDON, M. R.; BRADY, S. F. CLARDY, J. GOODMAN, R. M. Molecular biological access to the chemistry of unknown soil microbes: a new frontier for natural products. **Chem. Biol.**, 5:R245-249, 1998.

HONGYU, K. **Comparação do GGEbiplot ponderado e AMMI-ponderado com outros modelos de interação genótipo × ambiente**. 2015. 155p. Tese (Doutorado em Estatística e Experimentação Agrônômica) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2015.

HONGYU, K.; SANDANIELO, V. L. M.; JUNIOR, G. J. O. Análise de Componentes Principais: resumo teórico, aplicação e interpretação. **E&S - Engineering and Science**, 5:1, 2016.

HONGYU, K. Análise Fatorial Exploratória: resumo teórico, aplicação e interpretação. **E&S – Engineering and Science**, 7:4, 2018.

IBGE, INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Área e Produção de Cereais, Leguminosas e Oleaginosas - Brasil, Grandes Regiões e Unidades da Federação - Safra 2022**. Disponível em:

<https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/agricultura-e-pecuaria/9201-levantamento-sistemico-da-producao-agricola.html?=&t=resultados>. Acesso em: 09 fev. 2022 às 20:55.

IBGE, INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Províncias estruturais, compartimentos de relevo, tipos de solos, regiões fitoecológicas e outras áreas**. Rio de Janeiro. 2019. 176 p.

INSAM, H. Soil volatile organic compounds as tracers for microbial activities in soil. In: **Omics in Soil Science**. Caister Academic Press Norfolk, 2013. p. 127-138.

JOHNSON, R. A.; WICHERN, D. W. **Applied multivariate statistical analysis**. Madison: Prentice Hall International, 816 p, 1998.

KAISER, H. F. The varimax criterion for analytic rotation in factor analysis. **Psychometrika**, v. 23, p. 187-20, 1958.

KASSAM, A.; FRIEDRICH, T.; SHAXSON, F.; PRETTY, J. The Spread of Conservation Agriculture: Justification, Sustainability and Uptake. **Int. J. Agric. Sustain.**, 2009. v. 7, p. 292–320.

KASSAM, A.; FRIEDRICH, T.; DERPSCH, R. Global Spread of Conservation Agriculture. **Int. J. Environ. Stud.**, v. 76, p. 29–51, 2019.

KASSAM, A.; FRIEDRICH, T.; DERPSCH, R. State of the global adoption and spread of Conservation Agriculture. In: KASSAM, A. **Advances in Conservation Agriculture**. 2021. v. 3.

KAUR, J.; GOSAL, S.; KHURANA, S. Soil Enzymes: An Agricultural Perspective. In: BAKSHI, B. **New perspectives in agricultural sciences**. 2020. p. 59-82.

KERTESZ, M. A.; MIRLEAU, P. The role of soil microbes in plant sulphur nutrition. **J. Exp. Bot.**, 55(404):1939-45, 2004.

KHAN, N.; BANO, A. M. D.; BABAR, A. Impacts of Plant Growth Promoters and Plant Growth Regulators on Rainfed Agriculture. **PLoS ONE**, 15, e0231426, 2020.

KULINSKA, D.; CAMARGO V. L. L. DROSDOWICZ, A. Enzyme-activities in cerrado soils in Brazil. **Pedobiologia**, 24:101-107, 1982.

LEAL, O. A.; AMADO, T. J. C.; FIORIN, J. E.; KELLER, C.; REIMCHE, G. B.; RICE, C. W.; NICOLOSO, R. S.; BORTOLOTTI, R. P.; SCHWALBERT, R. Linking Cover Crop Residue Quality and Tillage System to CO<sub>2</sub>-C Emission, Soil C and N Stocks and Crop Yield Based on a Long-Term Experiment. **Agronomy**, 10, 1848, 2020.

LOPES, A. A. C.; SOUSA, D. M. G.; CHAER, G. M.; REIS JUNIOR, F. B.; GOEDERT, W. J.; MENDES, I. C. Interpretation of microbial soil indicators as a function of crop yield and organic carbon. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 77, p. 461-472, 2013.

LOPES, A. A. C.; SOUSA, D. M. G.; DOS REIS, F. B.; FIGUEIREDO, C. C.;

MALAQUIAS, J. V.; SOUZA, L. M.; MENDES, I. C. Temporal Variation and Critical Limits of Microbial Indicators in Oxisols in the Cerrado, Brazil. **Geoderma Reg.**, 12, 72–82, 2018.

LISBOA, B. B. **Parâmetros microbiológicos como indicadores de qualidade do solo em sistemas de manejo**. 2009. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) - UFRGS. Porto Alegre, RS. 2009.

LUCHETA, A. R.; LAMBAIS, M. R. Sulfur in agriculture. **Rev. Bras. Cienc. Solo**, 36:1369-79, 2012.

MACRAE, A. The use of 16S rDNA methods in soil microbiology ecology. **Braz. J. Microbiol.**, v. 31, p. 77-82. 2000.

MAIA, S. M. F.; CARVALHO, J. L. N.; CERRI, C. E. P.; BERNOUX, N.; LAL, R.; GALDOS, M. V.; CERRI, C. C. Contrasting approaches for estimating soil carbon changes in Amazon and Cerrado biomes. **Soil & Tillage Research**, 133, 75-84, 2013.

MANKOLO, R.; REDDY, C.; SENWO, Z.; NYAKATAWA, E.; SAJJALA, S. Soil Biochemical Changes Induced by Poultry Litter Application and Conservation Tillage under Cotton Production Systems. **Agronomy**, v. 2, p. 187–198, 2012.

MCGILL, W. B.; COLLE, C. V. Comparative aspects of cycling of organic C, N, S and P through soil organic matter. **Geoderma**, 26:267-86, 1981.

MEDINA, E. Nutrição Mineral: Savanas Tropicais. **Prog. Robô.**, 54, 237-253, 1993.

MELO, W. J.; DEMATTE, J. B. I.; PIZAURO-JÚNIOR, J. M.; CASSIANO SOBRINHO, F. Efeito do método de irrigação sobre a atividade de amilase e hidrolase em um Latossolo Roxo cultivado com cenoura. **Científica**, 10:41-48, 1982.

MENDES, I. C.; SOUZA, D. M. G.; REIS JUNIOR, F. B.; LOPES, A. A. C. Bioanálise de solo: como acessar e interpretar a saúde do solo. **Circular Técnica 38**. Embrapa. Planaltina, DF. 2018a.

MENDES, I. C.; TORMENA, C. A.; CHERUBIN, M. R.; KARLEN, D. L. Soil health assessment and maintenance in Central and South-Central Brazil. In: REICOSKY, D. **Managing Soil Health for Sustainable Agriculture**. Burleigh Dodds Science Publishing. Cambridge, UK, 2018b. v. 2, p. 379–415, ISBN 978-1-78676-192-7.

MENDES, I. C.; DE SOUZA, L. M.; DE SOUSA, D. M. G.; LOPES, A. A. C.; DOS REIS JUNIOR, F. B.; LACERDA, M. P. C.; MALAQUIAS, J. V. Critical Limits for Microbial Indicators in Tropical Oxisols at Post-Harvest: The FERTBIO Soil Sample Concept. **Appl. Soil Ecol.**, 139, 85–93, 2019.

MENDES, I. C.; SOUSA, D. M. G.; DANTAS, O. D.; LOPES, A. A. C.; JUNIOR, F. B. R.; OLIVEIRA, M. I.; CHAER, G. M. Soil Quality and Grain Yield: A Win–Win Combination in Clayey Tropical Oxisols. **Geoderma**, 388, 114880, 2021.

MILANI, L.; SOUZA, E. G.; URIBE-OPAZO, M. A.; GABRIEL FILHO, A.; JOHANN, J. A.; PEREIRA, J. O. Unidades de manejo a partir de dados de produtividade. **Acta Scientiarum**. Agronomy, v. 28, n. 1, p. 591-598, 2006.



MOLIN, J. P. Definição de unidades de manejo a partir de mapas de produtividade. **Engenharia Agrícola**, v. 22, n. 1, p. 83-92, 2002.

MOORE, M. **An investigation into the accuracy of yield maps and their subsequent use in crop management**. Cranfield: Cranfield University, 379 p. PhD Thesis. 1998.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e Bioquímica do Solo**. Lavras: Editora UFLA, 2006. 626p.

NANNIPIERI, P.; PIETRAMELLARA, G.; RENELLA, G. **Omics in soil science**. Caister Academic Press, 2014.

NICHOLLS, R. G.; ROY, A. R. Arylsulfatase. In: BOYER, P. D. **The Enzymes**. v. 5, 3rd ed., Academic Press, New York. 1971.

NETO, O. C. P.; GUIMARÃES, M. F.; RALISH, R.; FONSECA, I. C. B. Análise do tempo de consolidação do sistema de plantio direto. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 11, n. 5, pp. 489-496, 2007.

NIELSON, M. N.; SORENSEN, J.; FELS, J.; PDERSEN, H. C. Secondary metabolite and endochitinase dependent antagonism toward plant pathogenic microfungi of *Pseudomonas fluorescens* isolates from sugar beet rhizosphere. **Appl. Env. Microbiol.**, 64:3563–3569, 1998.

ONU, ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS. **World Population Prospects 2019**. DESA. Population Division. Disponível em: <https://population.un.org/wpp/Graphs/Probabilistic/POP/TOT/900>. Acesso em: 17 fev. 2022 às 20:58.

ORTEGA, R. A.; SANTIBÁÑEZ, O. A. Determination of management zones in corn (*Zea mays* L.) based on soil fertility. **Computers and Electronics in Agriculture**, v. 58, n. 1, p. 49-59, 2007.

OZIMEK, E.; HANAKA, A. *Mortierella* Species as the Plant Growth-Promoting Fungi Present in the Agricultural Soils. **Agriculture**, 11, 7, 2020.

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

PASSINATO, J. H.; BRENNER, M. S.; CAMPOS, B. C.; KUNZ, K. M.; TORNQUIST, C. G.; CRUZ, S. M.; TRAMONTINI, A. S. Sucessão de cultivos e indicadores da qualidade do plantio direto no Planalto Médio do Rio Grande do Sul. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, Lages, v. 19, n. 3, p. 354-364, 2020.

PAVINATO, P. S.; CHERUBIN, M.R.; SOLTANGHEISI, A.; SOLTANGHEIS, A.; ROCHA, G. C.; CHADWICK, D. R.; JONES, D. L. Revealing soil legacy phosphorus to promote sustainable agriculture in Brazil. **Sci. Rep. Nature**, 10, 15615, 2020.

PEDRON, F.A.; DALMOLIN, R.S.D. Solos arenosos do Bioma Pampa brasileiro. Santa Maria, RS. Editora UFSM. 280 p. 2019.

PEOPLES, M. B.; BROCKWELL, J.; HERRIDGE, D. F.; ROCHESTER, I. J.; ALVES, B. J. R.; URQUIAGA, S.; BODDEY, R. M.; DAKORA, F. D.; BHATTARAI, S.; MASKEY, S. L.; SAMPET, C.; RERKASEM, B.; KHAN, D. F.; HAUGGAARD-NIELSEN, H.; JENSEN, E. S. The contributions of nitrogen-fixing crop legumes to the productivity of agricultural systems. **Symbiosis**, v. 48, n. 1-3. p. 1-17. 2009.

PEREIRA, R. M.; SILVEIRA, E. L.; SCAQUITTO, D. C.; PEDRINHO, E. A. N.; VAL-MORAES, S. P.; WICKERT, E.; CARARETO-ALVES, L. M.; LEMOS, E. G. M. Molecular characterization of bacterial populations of different soils. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 37, n. 4, p. 439-447, 2006.

PILLAR, V. D., TORNQUIST, C. G.; BAYER, C. The southern Brazilian grassland biome: soil carbon stocks, fluxes of greenhouse gases and some options for mitigation. **Brazilian Journal of Biology**, v. 72, n. 3, p. 673-681, 2012.

PIRES, C. A. B.; AMADO, T. J. C.; REIMCHE, G.; SCHWALBERT, R.; SARTO, M. V. M.; NICOLOSO, R. S.; FIORIN, J. E.; RICE, C. W. Diversified Crop Rotation with No-till Changes Microbial Distribution with Depth and Enhances Activity in a Subtropical Oxisol. **Eur. J. Soil Sci.**, 71, 1173–1187, 2020.

PIRES, L. P. **Metagenoma de Comunidades Bacterianas Associadas o Solo do Bioma Pantanal Sul-mato-grossense**. 2019. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade Católica Dom Bosco, Campo Grande, MS, 2019.

POTT, L. P.; AMADO, T. J. C.; LEAL, O. A.; CIAMPITTI, I. A. Mitigation of Soil Compaction for Boosting Crop Productivity at Varying Yield Environments in Southern Brazil. **Eur. J. Soil Sci.**, 2019.

PRIMAVESI, A. Pioneira da agroecologia receberá prêmio mundial. **Estadão**. 22 de julho de 2012. Disponível em: <https://www.estadao.com.br/noticias/geral,pioneira-da-agroecologia-recebera-premio-mundial,903818>. Acesso em: 24 fev 2022.

RADHAKRISHNAN, R.; KANG, S. M.; BAEK, I. Y.; LEE, I. J. Characterization of Plant Growth-Promoting Traits of *Penicillium* Species against the Effects of High Soil Salinity and Root Disease. **J. Plant Interact.**, 9, 754–762, 2014.

RUSH, T. A.; SHRESTHA, H. K.; GOPALAKRISHNAN MEENA, M.; SPANGLER, M. K.; ELLIS, J. C.; LABBÉ, J. L.; ABRAHAM, P. E. Bioprospecting *Trichoderma*: A Systematic Roadmap to Screen Genomes and Natural Products for Biocontrol Applications. **Front. Fungal Biol.**, 2:716511, 2021.

SANTI, A. L.; AMADO, T. J. C.; EITELWEIN, M. T.; CHERUBIN, M. R.; SILVA, R. F.; Da ROS, C. O. Definição de zonas de produtividade em áreas manejadas com agricultura de precisão. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**. v. 8, n. 3. p. 510-515, UFRP, 2013.

SANTOS, H. G.; CARVALHO JÚNIOR, W.; DART, R. O.; ÁGLIO, M. L. D.; SOUZA, J. S.; PARES, J. G.; FONTANA, A.; MARTINS, A. L. S.; OLIVEIRA, A. P. **O Novo Mapa de Solos do Brasil. Legenda Atualizada—Dados Eletrônicos**. Embrapa Solos: Rio de Janeiro, Brasil, 2011, 67p.

SANTOS, H. G.; JACOMINE, P. K. T.; ANJOS, L. H. C.; OLIVEIRA, V. A.; LUMBRERAS, J. F.; COELHO, M. R.; ALMEIDA, J. A.; ARAUJO FILHO, J. C.; OLIVEIRA, J. B.;

- CUNHA, T. J. F. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. Embrapa, 5. ed. rev. e ampl. Brasília, DF, 2018.
- SCHEPERS, J. S.; SCHLEMMER, M. R.; FERGUSON, R. B. Site-specific considerations for managing phosphorus. **Journal of Environment Quality**, v. 29, n. 1, p. 125, 2000.
- SCHWALBERT, R. A.; CORASSA, G. M.; AMADO, T. J. C. Definição de zonas de manejo utilizando “multi-layers” e sensoriamento “on-the-go”: definições e uso. In: SANTI, A. L.; SEBEM, E.; GIOTTO, E.; AMADO, T. J. C. **Agricultura de precisão no Rio Grande do Sul**. 1 ed. Santa Maria, RS. CESPOL. 2016. p. 233-250.
- SHAFI, U.; MUMTAZ, R.; GARCÍA-NIETO, J.; HASSAN, S. A.; ZAIDI, S. A. R.; IQBAL, N. Precision Agriculture Techniques and Practices: From Considerations to Applications. Review. **Sensors**. 19, 3796, 2019.
- SHAH, K. K.; TRIPATHI, S.; TIWARI, I.; SHRESTHA, J.; MODI, B.; PAUDEL, N.; DAS, B. D. Role of Soil Microbes in Sustainable Crop Production and Soil Health: A Review. **AST**, v. 13, p. 109–118, 2021.
- SHAXSON, T. F. Re-Thinking the Conservation of Carbon, Water and Soil: A Different Perspective. **Agron. Sustain. Dev.**, 26, 9–19, 2006.
- SHORESH, M.; HARMAN, G.E.; MASTOURI, F. Induced Systemic Resistance and Plant Responses to Fungal Biocontrol Agents. **Annu. Rev. Phytopathol.**, 48, 21–43, 2010.
- SILVA, A. R. **Métodos de agrupamento: avaliação e aplicação ao estudo de divergência genética em acessos de alho**. 2012. Dissertação (Mestrado em Estatística Aplicada e Biometria) – Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, MG, 2012.
- SINGH, C.; TIWARI, S.; SINGH, J.; YADAV, A. N. **Microbes in Agriculture and Environmental Development**. CRC Press. 2020. 1st ed. 318 p.
- SOBUCKI, L.; RAMOS, R. F.; MEIRELES, L. A.; ANTONIOLLI, Z. I.; JACQUES, R. J. S. Contribution of enzymes to soil quality and the evolution of research in Brazil. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 45, 2021.
- STEELE, H. L.; STREIT, W. R. Metagenomics: Advances in ecology and biotechnology. **FEMS Microbiol. Lett.**, 247:105-111, 2005.
- SUSZEK, G.; SOUZA, E. G.; OPAZO, M. A. U.; NÓBREGA, L. H. P. Determination of management zones from normalized and standardized equivalent productivity maps in the soybean culture. **Engenharia Agrícola**, v. 31, n. 5, p. 895-905, 2011.
- TABATABAI, M. A. Soil enzymes. In: WEAVER, R. W.; ANGLE, J. S.; BOTTOMLEY, P. S.; BEZDICEK, D.; SMITH, S.; TABATABAI, A.; WOLLUM, A. **Methods of soil analysis**. Part 2. Microbiological and biochemical properties, Madison, Soil Science Society of America, 1994. v.5. p.775-833.
- TABATABAI, M. A.; BREMNER, J. M. Arylsulfatase activity of soils. **Soil Sci. Soc. Am. J.** 34:225-9, 1970.
- THAPA, S.; MISHRA, J.; ARORA, N.; MISHRA, P.; LI, H.; O’HAIR, J.; BHATTI, S.;

ZHOU, S. Microbial cellulolytic enzymes: diversity and biotechnology with reference to lignocellulosic biomass degradation. **Rev. Environ. Sci. Biotechnol.**, 19:621-48, 2020.

TIECHER, T.; MARTINS, A. P.; PERETTO, E. J. S.; FINK, J. R.; SANTOS, L. S.; DENARDIN, L. G. O.; TIECHER, T. L. **Evolução e Estado Da Fertilidade Do Solo No Norte Do Rio Grande Do Sul e Sudoeste de Santa Catarina**. UFRGS: Porto Alegre, 2016.

THIES, J. E. Molecular Approaches to Studying the Soil Biota. In: PAUL, E. A. **Soil Microbiology, Ecology and Biochemistry**. Fourth Edition, Academic Press, 2015. p. 151-185.

TSCHIEDEL, M.; FERREIRA, M. F. Introdução à Agricultura de Precisão: Conceitos e Vantagens. **Ciência Rural**. Santa Maria. Revisão Bibliográfica. v. 32. n. 1. 2002.

TOOR, M. D.; ADNAN, M. Role of Soil Microbes in Agriculture, A Review. **J. Biog. Sci. Res.**, 2020.

TÓTOLA, M. R.; CHAER, G. M. Microrganismos e Processos Microbiológicos como Indicadores da Qualidade do Solo. In: ALVAREZ, V. H.; SCHAEFER, C. E. G. R.; BARROS, N. F.; MELLO, J. W. V.; COSTA, L. M. **Tópicos em Ciência do Solo**. 2002. p. 195-276.

TRIPATHI, S.; SRIVASTAVA, P.; DEVI, R. S.; BHADOURIA, R. Influence of synthetic fertilizers and pesticides on soil health and soil microbiology. In: PRASAD, M. N. V. **Agrochemicals Detection, Treatment and Remediation: Pesticides and Chemical Fertilizers**. Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, 2020. p. 25–54.

VALERIANO, M. M.; ROSSETI, D. F.; ALBUQUERQUE, P. C. G. Topodata: Desenvolvimento da primeira versão do banco de dados geomorfométricos locais em cobertura nacional. In: **Anais do Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto**, Natal, Brasil, 25–30 de abril de 2009; INPE, São José dos Campos, Brasil, 2009. p. 5499–5506.

VAN BRUGGEN, A. H.; GRÜNWARD, N. J.; BOLDA, M. Cultural methods and soil nutrient status in low and high input agricultural systems, as they affect *Rhizoctonia* species. In: SNEH, B.; JABAJI-HARE, S.; NEATE, S. DIJST, G. **Rhizoctonia Species: Taxonomy, Molecular Biology, Ecology, Pathology and Disease Control**. Springer. 1996. 407-421.

VANLAUWE, B.; HUNGRIA, M.; KANAMPIU, F.; GILLER, K. E. The Role of Legumes in the Sustainable Intensification of African Smallholder Agriculture: Lessons Learnt and Challenges for the Future. **Agric. Ecosyst. Environ.**, 284, 106583, 2019.

VEZZANI, F. M.; MIELNICZUK, J. Uma visão sobre qualidade do solo. **R. Bras. Ci. Solo**, 33:743-755, 2009.

VICINI, L.; SOUZA, A. M.; MORALES, F. E. C.; SOUZA, F. M. **Técnicas Multivariadas: Teorias e Aplicações No Software Statística**. Editora da UFSM: Santa Maria, RS, 2018.

WALLENSTEIN, M. D.; BURNS R. G. Ecology of extracellular enzyme activities and organic matter degradation in soil: A complex community-driven process. In: DICK, R. P. **Methods of soil enzymology**. Madison: SSSA Book Series; 2011. p. 35-55.

WHITMAN, W. B.; COLEMAN, D. C.; WIEBE, W. J. Prokaryote the unseen majority. **Proc. Natl Acad. Sci.**, USA, 95, 6578-83. 1998.

WOESE, C. R.; KANDLER, O.; WHEELIS, M. L. Towards a natural system of organisms: proposal for the domains Archaea, Bacteria, and Eucarya. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 87 (12) 4576-4579, 1990.

XU, Z.; YU, G.; ZHANG, X.; GE, J.; HE, N.; WANG, Q.; WANG, D. The Variations in Soil Microbial Communities, Enzyme Activities and Their Relationships with Soil Organic Matter Decomposition along the Northern Slope of Changbai Mountain. **Appl. Soil Ecol.**, 86, 19–29, 2015.

YAN, L.; SHI, Z.; LI, F.; LI, H. Delineation of sitespecific management zones using fuzzy clustering analysis in a coastal saline land. **Computers and Electronics in Agriculture**. 56, 174–186. 2007.

YASMIN, H.; NAZ, R.; NOSHEEN, A.; HASSAN, M. N.; ILYAS, N.; SAJJAD, M.; ANJUM, S.; GAO, X.; GENG, Z. Identification of New Biocontrol Agent against Charcoal Rot Disease Caused by *Macrophomina phaseolina* in Soybean (*Glycine max* L.). **Sustainability**, 12, 6856, 2020.

ZAK, J. C.; WILLIG, M. R.; MOORHEAD, D. L.; WILDMAN, H. G. Functional diversity of microbial communities: a qualitative approach. **Soil Biology and Biochemistry**. Elmsford. v. 26, p. 1101-1108, 1994.

ZANATTA, J. A.; BAYER, C.; DIECKOW, J.; VIEIRA, F. C. B.; MIELNICZUK, J. Soil organic carbon accumulation and carbon costs related to tillage, cropping systems and nitrogen fertilization in a subtropical Acrisol. **Soil and Tillage Research**, v. 94, p. 510-519. 2007.

## APÊNDICE A – QUADRO DE CORRELAÇÕES DE PEARSON (MÉDIA DOS SETE CAMPOS)

S1. Quadro de correlações de Pearson entre atributos químicos e biológicos do solo em sete áreas sob agricultura conservacionista no Brasil.

	B-gluc	Aryl	MOS	Areia	Silte	Argila	pH	SMP	P	K	Ca	Mg	CTC	H+Al	BS	S	Zn	Cu	B	Mn	Ca/Mg	NT	COT	C/N
B-gluc	1.00	0.80	0.77	-0.76	0.70	0.41	-0.67	-0.71	-0.19	0.43	0.59	0.41	0.67	0.67	-0.16	0.03	-0.05	0.13	0.44	0.29	0.06	0.81	0.73	-0.31
Aryl		1.00	0.65	-0.64	0.49	0.53	-0.64	-0.69	-0.08	0.67	0.72	0.66	0.82	0.65	0.01	-0.17	-0.22	0.36	0.34	0.53	-0.09	0.73	0.59	-0.50
MOS			1.00	-0.86	0.78	0.49	-0.64	-0.86	-0.49	0.38	0.46	0.35	0.61	0.80	-0.40	0.03	-0.09	0.03	0.64	0.21	-0.03	0.95	0.97	0.03
Areia				1.00	-0.90	-0.58	0.54	0.73	0.58	-0.24	-0.36	-0.22	-0.48	-0.70	0.38	-0.11	0.07	-0.13	-0.56	-0.16	-0.06	-0.83	-0.87	-0.09
Silte					1.00	0.16	-0.40	-0.56	-0.50	0.03	0.40	0.19	0.43	0.51	-0.21	0.15	-0.04	-0.16	0.51	-0.06	0.13	0.78	0.82	0.07
Argila						1.00	-0.46	-0.60	-0.38	0.49	0.07	0.16	0.28	0.62	-0.47	-0.03	-0.09	0.59	0.31	0.47	-0.11	0.43	0.43	0.08
pH							1.00	0.86	0.12	-0.51	-0.44	-0.28	-0.60	-0.85	0.51	-0.13	0.09	-0.22	-0.23	-0.55	-0.17	-0.67	-0.62	0.21
SMP								1.00	0.35	-0.47	-0.48	-0.38	-0.68	-0.98	0.57	0.05	0.15	-0.17	-0.46	-0.48	-0.01	-0.84	-0.83	0.04
P									1.00	0.22	0.04	-0.06	-0.06	-0.32	0.37	-0.06	0.12	0.10	-0.43	0.21	0.18	-0.36	-0.51	-0.48
K										1.00	0.42	0.42	0.54	0.45	0.06	-0.14	-0.16	0.51	0.14	0.69	-0.10	0.48	0.31	-0.54
Ca											1.00	0.83	0.96	0.43	0.37	-0.15	-0.34	-0.02	0.14	0.33	0.00	0.58	0.46	-0.44
Mg												1.00	0.86	0.32	0.44	-0.37	-0.49	0.05	0.23	0.36	-0.48	0.46	0.32	-0.48
CEC													1.00	0.64	0.17	-0.21	-0.37	0.09	0.26	0.48	-0.12	0.71	0.59	-0.44
H+Al														1.00	-0.62	-0.06	-0.12	0.20	0.39	0.53	0.02	0.78	0.78	-0.05
BS															1.00	-0.14	-0.19	-0.08	-0.22	-0.11	-0.18	-0.25	-0.39	-0.45
S																1.00	0.34	0.10	0.17	-0.27	0.67	-0.02	0.07	0.28
Zn																	1.00	0.36	0.07	-0.16	0.42	-0.11	-0.07	0.11
Cu																		1.00	0.07	0.51	0.13	0.08	-0.02	-0.27
B																			1.00	-0.13	-0.18	0.59	0.63	0.08
Mn																				1.00	-0.14	0.35	0.19	-0.53
Ca/Mg																					1.00	-0.04	0.01	0.21
NT																						1.00	0.96	-0.21
COT																							1.00	0.06
C/N																								1.00

$\beta$ -glicosidase (B\_Gluc); arilsulfatase (Aryl); matéria orgânica do solo (MOS); areia; silte; argila; potencial de hidrogênio (pH); índice pH SMP (SMP); fósforo (P); potássio (K); cálcio (Ca); magnésio (Mg); capacidade de troca catiônica (CTC); acidez potencial (H+Al); saturação de bases (BS); enxofre (S); zinco (Zn); cobre (Cu); boro (B); manganês (Mn); relação cálcio/magnésio (Ca/Mg); nitrogênio total (NT); carbono orgânico total (COT); relação C/N (C/N).

**APÊNDICE B - TABELA DE AUTOVALORES E CORRELAÇÃO DAS VARIÁVEIS  
ORIGINAIS DA ACP DA “FIGURE 2”**

S2. Tabela de Autovalores e Correlação das variáveis originais com os componentes principais mais importantes referentes à “Figure 2”.

<b>Análise de Componentes Principais</b>			
<b>Número do valor</b>	<b>EV 1</b>	<b>EV 2</b>	<b>EV 3</b>
Autovalor	1.92	0.84	0.23
Variância Total (%)	64.13	28.07	7.80
EV Cumulativo	1.92	2.77	3.00
S Total Cumulativo (%)	64.13	92.20	100.00
<b>Variável</b>	<b>Correlações (p&lt;0.05)</b>		
	<b>PC 1</b>	<b>PC 2</b>	<b>PC 3</b>
Prev_Yield	0.29	0.30	0.19
B_gluc	0.89	-0.30	0.33
Aryl	0.92	-0.20	-0.35
Sand	-0.63	0.22	-0.26
Silt	0.42	-0.46	0.37
Clay	0.55	0.34	-0.10
TN	0.66	-0.42	0.13
TOC	0.50	-0.44	0.26
pH	-0.61	0.27	0.08
SMP	-0.59	0.27	-0.01
P	0.00	0.04	-0.28
K	0.60	0.05	-0.41
SOM	0.55	-0.41	0.18
Ca	0.54	-0.38	-0.28
Mg	0.36	-0.28	-0.51
CEC	0.64	-0.36	-0.33
H+Al	0.57	-0.18	0.03
BS	-0.06	-0.03	-0.30
S	0.20	-0.45	0.38
Zn	0.13	0.06	0.25
Cu	0.58	0.33	-0.31
B	0.21	-0.30	0.20
Mn	0.48	0.25	-0.36
Ca_Mg	0.41	-0.21	0.35
Sat_Ca	0.11	-0.19	-0.04
Sat_Mg	-0.39	0.14	-0.32
Sat_K	0.19	0.17	-0.33
T	-0.60	0.01	0.58
Precip	0.47	-0.26	-0.42
Slope	0.36	-0.16	-0.51
Elev	-0.11	0.25	0.60
Current_Yield	0.54	0.84	0.04
NDVI	0.30	0.42	0.03

## ANEXO A – CERTIFICADO DE PREMIAÇÃO NO 8<sup>th</sup> WCCA

Online Congress, Bern, Switzerland  
June 21<sup>st</sup> - 23<sup>rd</sup>, 2021  
Field Days, Witzwil, Bern  
June 24<sup>th</sup> & 25<sup>th</sup>, 2021



*The future of farming*  
Profitable and Sustainable Farming  
with Conservation Agriculture

# BEST ORAL PRESENTATION AWARD

Prof. Dr. Emilio J. González- Sánchez as Chair of the Scientific and Technical Committee of the 8<sup>th</sup> World Congress on Conservation Agriculture

Certifies that

## J.H. Passinato

as author/s of the contribution

## Soil health ceckup of Brazilian Conservation Agriculture farming systems

Has been **awared Best Oral Presentation** of the Subtheme 2:  
Farm and ecosystem level benefits of CA systems  
to farmers, society and environment

Prof. Dr. Emilio J. González-Sánchez  
Secretary General ECAF  
Chair Scientific & Technical Committee

