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

Janielly Silva Costa Moscôso

EFLUXO DE METANO RELACIONADO COM ÁCIDOS ORGÂNICOS NO SOLO E CARBONO DE EXSUDADOS RADICULARES NO CULTIVO DO ARROZ IRRIGADO

Santa Maria, RS
2018

Janielly Silva Costa Moscôso

EFLUXO DE METANO RELACIONADO COM ÁCIDOS ORGÂNICOS NO SOLO E CARBONO DE EXSUDADOS RADICULARES NO CULTIVO DO ARROZ IRRIGADO

Tese de doutorado apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, Área de Concentração em Processos Químicos e Ciclagem de Elementos, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para a obtenção do título de **Doutor em Ciência do Solo.**

Orientador: Prof. Dr. Leandro Souza da Silva

Santa Maria, RS
2018

Ficha catalográfica elaborada através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Central da UFSM, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Moscôso , Janielly Silva Costa
Efluxo de metano relacionado com ácidos orgânicos no solo e carbono de exsudados radiculares no cultivo do arroz irrigado / Janielly Silva Costa Moscôso .- 2018.
126 p.; 30 cm

Orientador: Leandro Souza da Silva Silva
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós Graduação em Ciência do Solo, RS, 2018

1. Metanogênese 2. Gases de efeito estufa 3. Acetato 4. Exsudatos 5. Fotossíntese I. Silva, Leandro Souza da Silva II. Título.

©2018
Todos os direitos autorais reservados a Janielly Silva Costa Moscôso. A reprodução de partes ou do todo deste trabalho só poderá ser feita mediante a citação da fonte.
E-mail: janiellycosta@hotmail.com

Janielly Silva Costa Moscôso

EFLUXO DE METANO RELACIONADO COM ÁCIDOS ORGÂNICOS NO SOLO E CARBONO DE EXSUDADOS RADICULARES NO CULTIVO DO ARROZ IRRIGADO

Tese de doutorado apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, Área de Concentração em Processos Químicos e Ciclagem de Elementos, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para a obtenção do título de **Doutor em Ciência do Solo**.

Aprovado em 20 de julho de 2018:

Leandro Souza da Silva, Dr. (UFSM)
(Presidente/Orientador)

Diovane Freire Moterle (IFRS – Bento Gonçalves)

Sandro José Giacomini (UFSM)

Stefen Barbosa Pujol (UFSM)

Douglas Adams Weiler (UFSM)

Santa Maria, RS
2018

DEDICATÓRIA

Aos meus pais: Maria da Conceição Silva Costa e Jânio Ornilo da Costa, por todo o apoio e amor de sempre e por toda paciência para suportar as saudades devido à distância.

Ao meu esposo: Leandro Moscôso Araújo, por todo amor, apoio, paciência, carinho e companheirismo nesta jornada.

AGRADECIMENTOS

À Deus primeiramente, pela graça da vida, por iluminar meus caminhos e me dar forças para nunca desistir dos meus objetivos.

Aos meus pais Jânio Ornilo da Costa e Maria da Conceição Silva Costa, pelo exemplo de luta, carinho e apoio em todos os momentos desta caminhada, mesmo que a quilômetros de distância, foi o amor por vocês que me motivou a chegar até aqui.

Ao meu esposo Leandro Moscôso Araújo, por todo carinho, compreensão, paciência, apoio e companheirismo em todos os momentos. Te amo muito!

À CAPES pela oportunidade de realização do curso de Doutorado mediante concessão de bolsa de estudo.

À Universidade Federal de Santa Maria e ao Programa de Pós-graduação em Ciência do Solo, pela oportunidade em poder usufrui desse espaço, possibilitando uma formação acadêmica de qualidade e gratuita. Além de um crescimento não só profissional, mas também pessoal.

Ao meu orientador, professor Leandro Souza da Silva, por toda orientação, por me acolher e me acompanhar nesta caminhada. Por toda calma, paciência e compartilhamento de conhecimento e, acima de tudo, pela confiança durante esses anos de orientação.

Ao professor Sandro José Giacomini pelas contribuições durante o decorrer do trabalho. Agradeço também a todo grupo LABCEN pela ajuda e em especial ao pós-doutorando Stefen Pujol pela paciência em ensinar cada passo de utilização do cromatógrafo, pelo auxilio nos cálculos e pela disponibilidade de sempre.

Ao professor Fernando Teixeira Nicoloso, por disponibilizar o uso do equipamento IRGA, e a todos os colegas do grupo de pesquisa (FisioPlant), Miriam Tavares (minha amiga/irmã de todas as horas), Camila Tarouco e Anderson Marques, que contribuíram sanando minhas dúvidas com relação a soluções nutritivas e aspectos fisiológicos.

Aos professores Ricardo Bergamo Schenato e Alessandro Dal'Col Lúcio pela ajuda na estatística do trabalho.

Ao IRGA e a EMBRAPA pela cedência de sementes de cultivares de arroz irrigado.

Aos professores do programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, Celso Aita, Gustavo Brunetto, Rodrigo Jacques, Zaida Antoniolli e Carlos Ceretta e aos professores do programa de Pós-Graduação em Agronomia, Fernando Nicoloso e Ênio Marchesan, os quais tive a oportunidade de cursar disciplinas que foram de extrema importância para minha qualificação profissional.

A todos os funcionários do departamento de solos que contribuíram de alguma forma para a execução deste trabalho, Luiz Finamor (*in memoriam*), Enio Pozzobom, Alex Giuliani, Paulinho e Elci e ao secretário do PPG Ciência do Solo Heverton por sempre ser tão prestativo.

Aos bolsistas de iniciação científica que auxiliaram em cada etapa da construção desse trabalho, Natália, Allan, Luiz Henrique, Bruno, Mariana, Laura, Gustavo e Augusto, sem vocês seria impossível a realização desse trabalho. Meu muito obrigada!

Aos colegas do grupo de pesquisa Cesar Cella, Gerson Drescher, Qamar Sarfaraz, Carolina Schultz, Rosemar de Queiroz, Elaine Vione e em especial a Fabiane Severo, pelo acolhimento dela e de toda a sua família comigo aqui no Sul. Agradeço a todos os colegas pelo auxílio nas montagens dos experimentos, na coleta de amostras, no compartilhamento de dúvidas e angústias e pelos momentos de descontração.

Aos colegas da Pós-Graduação em Ciência do Solo, Betânia de Paula, Jocelina Vargas, Edicarla Trentin, Valéria Ortaça, Joice Aline, Luanna Monteiro, Janaína Heinzen, Lethícia Neto, Mariana Dossin, Luís Antônio, Max Dantas, Pedro Paulo, José Augusto e tantos outros que por ventura não foram citados aqui. Vocês tornaram a caminhada mais leve com amizades recíprocas.

Enfim, a todos que me ajudaram nesta etapa acadêmica, meu sincero reconhecimento e gratidão.

Sonhar é verbo: é seguir, é pensar, inspirar e fazer força, insistir, é lutar, transpirar.
São mil verbos que vem antes do verbo realizar.

(Braúlio Bessa)

Crê em ti mesmo, age e verás os resultados. Quando te esforças, a vida também se esforça para te ajudar.

(Chico Xavier)

RESUMO

EFLUXO DE METANO RELACIONADO COM ÁCIDOS ORGÂNICOS NO SOLO E CARBONO DE EXSUDADOS RADICULARES NO CULTIVO DO ARROZ IRRIGADO

AUTORA: Janielly Silva Costa Moscôso
ORIENTADOR: Leandro Souza da Silva

A agricultura é uma das principais atividades geradora de gases de efeito estufa (GEEs) mundialmente. No Brasil, como reflexo da importância da agricultura na economia, estima-se que 75% das emissões de dióxido de carbono (CO_2), 94% das emissões de óxido nitroso (N_2O) e 91% das emissões de metano (CH_4) sejam provenientes de atividades agrícolas. Uma das atividades agrícolas que merece destaque na emissão de GEEs é o cultivo do arroz irrigado, principalmente a emissão do CH_4. Em arrozais irrigados a emissão do CH_4 se caracteriza por dois picos preferenciais, um no início do cultivo, relacionado a degradação de ácidos orgânicos de cadeia curta presente no solo e outro no período reprodutivo da planta, relacionado ao carbono orgânico total (COT) exsudado de suas raízes como consequência de uma intensa atividade fotossintética. Compreender detalhadamente estes dois picos da emissão de CH_4 em lavouras de arroz irrigado seria uma base para uma possível mitigação da emissão deste gás. O objetivo desse trabalho foi verificar como os ácidos orgânicos de cadeia curta podem intervir na dinâmica e no potencial da emissão de CH_4 e avaliar a contribuição do carbono orgânico total proveniente da exsudação radicular de diferentes cultivares de arroz irrigado na emissão de CH_4, correlacionando o carbono orgânico derivado da exsudação das raízes com o efluxo de CH_4 e com os aspectos fisiológicos e agronômicos das cultivares. Diante disto a presente tese foi estruturada em dois estudos: o primeiro estudo sendo constituído pelo experimento: “Dinâmica e potencial da emissão de metano em Planossolo alagado submetido a doses de ácido acético, propiônico e butírico” e o segundo estudo sendo constituído de dois experimentos: Experimento I: Carbono orgânico total exsudado das raízes de arroz irrigado em estádio de florescimento pleno” e “Experimento II: Emissão de metano de diferentes cultivares de arroz irrigado, aspectos fisiológicos, agronômicos e alterações na solução do solo”. A partir dos resultados obtidos concluiu-se que as dinâmicas de emissões de CH_4 foram alteradas com a aplicação dos três ácidos orgânicos de cadeia curta no solo, mesmo utilizando uma igual dose de carbono. A emissão mais rápida e de maior intensidade foi alcançada com a aplicação do ácido acético em relação a aplicação dos outros dois ácidos e quando aplicado o ácido propiônico houve uma diminuição na eficiência de transformação a CH_4 devido a própria estequiometria do ácido e a condição de temperatura em que foi conduzido o experimento. Com relação ao estudo II concluiu-se que as cultivares de arroz irrigado apresentaram diferença entre si quanto ao COT exsudado das raízes, sendo as cultivares de ciclo precoce as que apresentam valores menores de COT e este obteve maior correlação com a matéria seca da parte aérea do que com a matéria seca das raízes. Cultivares tradicionais alcançaram um valor expressivo de emissão de CH_4, mesmo apresentando um pequeno conteúdo de COT exsudado das raízes, como também a dinâmica de efluxo de CH_4 foi bem mais correlacionada com o carbono orgânico dissolvido na solução do solo do que com o COT exsudado das raízes de cultivares de arroz. Os parâmetros agronômicos e fisiológicos apresentaram mais correlação com o COT exsudado das raízes das cultivares do que com a emissão de CH_4.

Palavras-chave: Metanogênese. Gases de efeito estufa. Acetato. Exsudatos. Fotossíntese.

ABSTRACT

EFFLUX OF METHANE RELATED TO ORGANIC ACIDS IN SOIL AND ROOT EXUDATES CARBON IN IRRIGATED RICE CULTIVATION

AUTHOR: Janielly Silva Costa Moscôso
ADVISOR: Leandro Souza da Silva

In worldwide greenhouse gases generation (GHGs) agriculture is one of the principal activities. In Brazil, as a reflection of the importance agriculture in economy, it is estimated that 75% of emissions of carbon dioxide (CO_2), 94% of nitrous oxide (N_2O) and 91% of methane (CH_4) are contributed by agricultural activities. One of the agricultural activities that gets more attention in the emission of GHGs is irrigated rice cultivation, mainly in CH_4 emission. In irrigated rice fields CH_4 emission is characterized by two preferential peaks, one at the beginning of the crop, by the degradation of short chain organic acids present in soil and another in plant reproductive period, related to total organic carbon (TOC) exuded from its roots as a consequence of an intense photosynthetic activity. By understanding these two peaks of CH_4 emission in irrigated rice can be a basis for its possible mitigation. The objective of this study was to evaluate the intervention mechanism of organic acids in the dynamics and potential emission of CH_4 and to evaluate the contribution of TOC from root exudations of different cultivars of irrigated rice in CH_4 emission, correlating the organic carbon derived from root exudation with CH_4 efflux, physiological and agronomical aspects of cultivars. For this the present work was structured in two studies: 1st study was constructed as “dynamics and methane emission potential in flooded planosol under high doses of acetic, propionic and butyric acid” while the second study consisted of two experiments; Experiment I: “Total organic carbon exuded from rots of irrigated rice up to inflorescence” and Experiment II: “Methane emission from different cultivars of irrigated rice, physiological, agronomic and soil solution changes”. From the results obtained it was concluded that CH_4 emission dynamics were altered with application of three organic acids of short chain in the soil, even using an equal dose of carbon. Faster and more intense CH_4 emission was achieved with the application of acetic acid comparing to other two acids, when propionic acid was applied, there was a decrease in transformation efficiency to CH_4 due to the acid stoichiometry itself and the temperature condition in which experiment was conducted. Regarding study II, it was concluded that irrigated rice cultivars showed differences in their TOC roots exotherm, with cultivars of precocious cycle having the lowest TOC values and this one obtained a higher correlation with the dry matter of the aerial part than with roots dry matter. Traditional cultivars reached an expressive CH_4 emission value, even though they had a small TOC exudate content, as well as CH_4 efflux dynamic was much more correlated with the organic carbon dissolved in soil solution than with TOC exotherm of roots. The agronomic and physiological parameters showed more correlation with TOC exotherm of roots of cultivars than with the emission of CH_4.

Keywords: Methanogenesis Greenhouse gases. Acetate Exudates. Photosynthetic.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

ESTUDO I

Figura 1 – Fluxo de C-CH4 após aplicação de ácidos orgânicos de cadeia curta (a, b, c). Emissão líquida acumulada de C-CH_4 após aplicação de ácidos orgânicos de cadeia curta (d, e, f)..... 46

Figura 2 – Regressão da emissão total de C-CH_4 em função de doses de carbono proveniente de três ácidos orgânicos de cadeia curta..... 54

ESTUDO II

Figura 1 – Correlação entre concentração de carbono em exsudatos de raízes de cultivares de arroz irrigado e matéria seca total das plantas..... 71

Figura 2 – Correlação entre concentração de carbono em exsudatos de raízes de cultivares de arroz irrigado e matéria seca da parte aérea (A); Correlação entre concentração de carbono em exsudatos de raízes de cultivares de arroz irrigado e matéria seca da raiz (B)..... 72

Figura 3 – Taxas de efluxo de CH_4 em cultivares de arroz irrigado em função do alagamento do solo durante o ciclo da cultura em casa de vegetação. (A) cultivares de ciclo precoce, (B) cultivares de ciclo médio..... 74

Figura 4 – Emissão acumulada de C-CH_4 em cultivares de arroz irrigado em função do alagamento do solo durante o ciclo da cultura em casa de vegetação. (A) cultivares de ciclo precoce, (B) cultivares de ciclo médio..... 77

Figura 5 – Valores de pH da solução do solo em função do alagamento do solo durante o ciclo da cultura do arroz irrigado em casa de vegetação. (A) cultivares de ciclo médio, (B) cultivares de ciclo precoce..... 78

Figura 6 – Teores de Fe^{2+} da solução do solo em função do alagamento do solo durante o ciclo da cultura do arroz irrigado em casa de vegetação. (A) cultivares de ciclo médio, (B) cultivares de ciclo precoce..... 79

Figura 7 – Teores de Mn^{2+} da solução do solo em função do alagamento do solo durante o ciclo da cultura do arroz irrigado em casa de vegetação. (A) cultivares de ciclo médio, (B) cultivares de ciclo precoce..... 81

Figura 8 – Teores de Carbono Orgânico Disponível (COD) da solução do solo em função do alagamento do solo durante o ciclo da cultura do arroz irrigado em casa de vegetação. (A) cultivares de ciclo médio, (B) cultivares de ciclo precoce..... 83

Figura 9 – Taxas de assimilação liquida de CO_2 – fotossíntese (A), avaliadas em dez cultivares de arroz irrigado. (A) 1ª leitura-63 dias após alagamento do solo, (B) 2ª leitura-78 dias após alagamento do solo..... 87

Figura 10– Condutâncias estomática (gs), avaliadas em dez cultivares de arroz irrigado. (A) 1ª leitura-63 dias após alagamento

do solo, (B) 2ª leitura-78 dias após alagamento do solo..... 88
Figura 11 – Concentração de CO_2 intercelular (ci), avaliadas em dez cultivares de arroz irrigado. (A) 1ª leitura-63 dias após alagamento do solo, (B) 2ª leitura-78 dias após alagamento do solo..... 89
Figura 12– Taxas de transpiração (E), avaliadas em dez cultivares de arroz irrigado. (A) 1ª leitura-63 dias após alagamento do solo, (B) 2ª leitura-78 dias após alagamento do solo..... 90
Figura 13– Eficiências do uso da água (EUA), avaliadas em dez cultivares de arroz irrigado. (A) 1ª leitura-63 dias após alagamento do solo, (B) 2ª leitura-78 dias após alagamento do solo..... 92
Figura 14– Eficiências instantâneas de carboxilação pela Rubisco (A/ci), avaliadas em dez cultivares de arroz irrigado. (A) 1ª leitura-63 dias após alagamento do solo, (B) 2ª leitura-78 dias após alagamento do solo..... 93
APÊNDICE 1 – Dados referentes ao estudo piloto realizado em incubadora tipo BOD
Figura 1 – Resultados experimento piloto. (A) Fluxo de C-CH_4 nas doses 0, 90, 180 e 270 mg C kg^{-1} solo em 7 dias após aplicação de ácido acético. (B) Emissão liquida acumulada de C-CH_4 nas doses 0, 90, 180 e 270 mg C kg^{-1} solo 7 dias após aplicação de ácido acético. (C) Regressão da emissão total de C-CH_4 em função de doses de ácido acético..... 121
APÊNDICE 2 – Condução do estudo I
Figura 2 – Etapas de condução do experimento. (A) Primeiro experimento piloto realizado sob condição de casa de vegetação com aplicação de doses de ácido acético. (B) Aplicação de vácuo e injeção de N_2 nas unidades experimentais. (C) Aplicação dos tratamentos correspondentes as doses de carbono provenientes dos três ácidos orgânicos de cadeia curta. (D) Visão geral da coleta de gás do “espaço livre” das unidades experimentais..... 122
APÊNDICE 3 – Condução do experimento I (estudo II)
Figura 3 – Etapas da condução do experimento. (A) Germinação das sementes em papel toalha. (B) Detalhe do cultivo de arroz irrigado em solução nutritiva. (C) Visão geral do experimento 5 dias após transplante. (D) Visão geral do experimento 21 dias após transplante. (E) Correção do pH da solução nutritiva para posterior troca. (F) Recolha dos exsudatos radiculares em solução de $CaSO_4$ a 0,01mol L^{-1}..... 123
APÊNDICE 4 – Condução do experimento II (estudo II)
Figura 4 – Etapas da condução do experimento. (A) Visão geral da coleta de gás no experimento. (B) Amostras de gás transferidas para frascos de vidro evacuados (*extainer*). (C) Coleta da solução do solo. (D) Leitura para

quantificação de aspectos fisiológicos utilizando o aparelho IRGA. (E) Quantificação do aspecto agronômico “matéria seca da parte aérea”. (F) Quantificação do aspecto agronômico “produtividade”..... 124

LISTA DE TABELAS

ESTUDO I

Tabela 1 – Tratamentos com adição de diferentes doses de carbono no solo via diferentes ácidos orgânicos de cadeia curta..... 43

Tabela 2 – H_2, acetato e CH_4 equivalentes da degradação anaeróbica de diferentes compostos intermediários..... 45

Tabela 3 – Valores médios (n=36) obtidos para emissão de C-CH_4 total, após aplicação de diferentes ácidos orgânicos de cadeia curta, sob condições controladas de laboratório..... 52

ESTUDO II

Tabela 1 – Descrição das características das cultivares utilizada no experimento em casa de vegetação no experimento I..... 60

Tabela 2 – Composição da solução nutritiva utilizada para o experimento I..... 61

Tabela 3 – Características do Planossolo Háplico utilizado no experimento..... 64

Tabela 4 – Valores médios (n=45) obtidos para Carbono exsudado de raízes de cultivares de arroz irrigado no estádio de florescimento pleno e matéria seca total, da raiz e da parte aérea..... 69

Tabela 5 – Valores médios (n=30) obtidos para as características agronômicas, avaliados em dez cultivares de arroz irrigado, sob condições de casa de vegetação..... 85

Tabela 6 – Correlações fenotípicas (rf) e genotípicas (rg) entre três variáveis agronômicas, emissão acumulada de CH_4 e COT exsudado das raízes, avaliadas em dez cultivares de arroz irrigado, sob condições de casa de vegetação..... 95

Tabela 7 – Correlações fenotípicas (rf) e genotípicas (rg) entre seis variáveis fisiológicas, emissão pontual de CH_4 e COT exsudado das raízes, avaliadas em dez cultivares de arroz irrigado, sob condições de casa de vegetação, aos 63 dias após o alagamento do solo (1ª leitura) e aos 78 dias após o alagamento do solo (2ª leitura)..... 97

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL..... 23
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA..... 26
2.1 ARROZ IRRIGADO E O GÁS METANO (CH_4)..... 26
2.2 ÁCIDOS ORGÂNICOS DE CADEIA CURTA E A PRODUÇÃO DE CH_4..... 28
2.3 EXSUDAÇÃO RADICULAR COMO FONTE PARA A METANOGÊNESE..... 33
3 HIPÓTESES..... 37
4 OBJETIVOS..... 38
4.1 OBJETIVO GERAL..... 38
4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS..... 38
5 ORGANIZAÇÃO DOS ESTUDOS..... 39
6 ESTUDO I: EMISSÃO DE METANO EM SOLO DE TERRAS BAIXAS INDUZIDA POR ÁCIDOS ORGÂNICOS DE CADEIA CURTA..... 40
6.1 INTRODUÇÃO..... 41
6.2 MATERIAL E MÉTODOS..... 42
6.2.1 Experimento: Dinâmica e potencial da emissão de metano em Planossolo alagado submetido a doses de ácido acético, propiônico e butírico..... 42
6.2.1.1 Condução do experimento e delineamento experimental..... 42
6.2.1.2 Quantificação da emissão de gás CH_4 proveniente da aplicação de ácidos orgânicos..... 43
6.2.1.3 Análise estatística..... 45
6.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO..... 46
6.3.1 Dinâmica de emissão do CH_4..... 46
6.3.2 Potencial de emissão do CH_4..... 52
6.4 CONCLUSÕES..... 57
7 ESTUDO II: INFLUÊNCIA DO CARBONO DE EXSUDAÇÃO RADICULAR E DE VARIÁVEIS AGRONÔMICAS E FISIOLÓGICAS DAS PLANTAS NO EFLUXO DE CH_4 EM CULTIVARES DE ARROZ IRRIGADO..... 58
7.1 INTRODUÇÃO..... 58
7.2 MATERIAL E MÉTODOS..... 60
7.2.1 Experimento I: Carbono orgânico total exsudado das raízes de arroz irrigado em estádio de florescimento pleno..... 60
7.2.1.1 Condução do experimento e delineamento experimental..... 60
7.2.1.2 Quantificação do carbono orgânico total de exsudatos radiculares..... 61
7.2.1.3 Análise estatística..... 63
7.2.2 Experimento II: Emissão de metano de diferentes cultivares de arroz irrigado, aspectos fisiológicos, agronômicos e alterações na solução do solo..... 63
7.2.2.1 Condução do experimento e delineamento experimental..... 63
7.2.2.2 Amostragem e análise do CH_4..... 65
7.2.2.3 Amostragem e análises da solução do solo..... 66

7.2.2.4 Quantificação dos parâmetros fisiológicos..... 67
7.2.2.5 Quantificação dos parâmetros agronômicos..... 67
7.2.2.6 Análise estatística..... 68
7.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO..... 69
7.3.1 Quantificação do carbono exsudado de raízes de cultivares de arroz irrigado e correlação com a matéria seca..... 69
7.3.2 Emissão de metano em cultivares de arroz irrigado..... 73
7.3.3 Alterações químicas na solução do solo cultivado com arroz irrigado..... 77
7.3.4 Aspectos agronômicos das cultivares de arroz irrigado..... 85
7.3.5 Aspectos fisiológicos das cultivares de arroz irrigado..... 87
7.3.6 Correlações entre emissão de metano, exsudação radicular de COT, aspectos agronômicos e aspectos fisiológicos das cultivares de arroz irrigado..... 94
7.4 CONCLUSÕES..... 101
8 CONSIDERAÇÕES FINAIS..... 102
9 PERSPECTIVA DE ESTUDOS FUTUROS..... 104
10 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... 106
11 APÊNDICES..... 121
APÊNDICE 1 – Dados referentes ao estudo piloto realizado em incubadora tipo BOD..... 121
APÊNDICE 2 – Condução do estudo I..... 122
APÊNDICE 3 – Condução do experimento I (estudo II)..... 123
APÊNDICE 4 – Condução do experimento II (estudo II)..... 124

1 INTRODUÇÃO GERAL

O efeito estufa é um fenômeno natural que mantem a temperatura média da terra em torno de 15 °C para garantir condições climáticas favoráveis aos seres humanos. Porém, nas últimas décadas, com o aumento nas concentrações de gases de efeito estufa (GEE), tais como o dióxido de carbono (CO_2), metano (CH_4) e o óxido nitroso (N_2O), ocorreu uma elevação na temperatura média da superfície terrestre em torno de 0,15 °C, a cada década (IPCC, 2015). Vários cientistas têm focado em estudos sobre mudanças climáticas globais, provocadas pelo aumento na geração de GEE e, por consequência disto, o aquecimento global. Dentre as atividades geradoras de GEE, estima-se que a agricultura e a pecuária contribuem, mundialmente, com aproximadamente 22% das emissões totais de CO_2, 80% das emissões de N_2O e 55% das emissões de CH_4. Entretanto, no Brasil, como reflexo da importância destas duas atividades na economia, estima-se que 75% das emissões de CO_2, 94% das emissões de N_2O e 91% das emissões de CH_4 sejam provenientes de atividades agropecuárias (BAYER et al., 2011; PORTELA; LEITE, 2016).

Uma das atividades agrícolas que merece destaque na emissão de GEE é o cultivo do arroz irrigado, que é uma importante fonte de emissão, principalmente do CH_4 e do N_2O, gases estes com potencial relativo de aquecimento global de 28 e 265 vezes superior ao do CO_2 (IPCC, 2015). O arroz é um constituinte básico na alimentação humana e base alimentar de mais de três bilhões de pessoas, sendo o segundo cereal mais cultivado no mundo, ocupando área aproximada de 168 milhões de hectares, com produção de cerca de 741,0 milhões de toneladas de grãos em casca, correspondendo a 29% do total de grãos usados na alimentação humana (SOSBAI, 2016). No Brasil, o cultivo de arroz irrigado é responsável pelo efluxo, em média, de 462 Gg de CH_4 ano^{-1}, destacando-se os estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina, onde a área cultivada com arroz irrigado por alagamento representa 80% da área total cultivada no Brasil (MCTIC, 2017).

A emissão de CH_4 em arrozais irrigados é o resultado de complexas interações entre plantas de arroz, microrganismos e o solo. Em ambientes alagados, há um predomínio de atividade anaeróbica no solo devido à presença da lâmina de água que determina a ausência de O_2 (SILVA et al., 2008). Nestas condições, altera-se o sistema de oxi-redução com a utilização de outros compostos como aceptores

de elétrons, e a partir do esgotamento dos compostos inorgânicos, os microrganismos utilizam compostos orgânicos como aceptores finais de elétrons na sua cadeia transportadora de elétrons e, por consequência, há a produção de CH_4. Dentre estes compostos orgânicos utilizados na metanogênese, destaca-se o acetato, proveniente da própria matéria orgânica do solo e dos resíduos culturais presentes no solo, formado por meio da fermentação que gera, principalmente, os ácidos acético, propiônico e butírico. Esses ácidos têm sido detectados nos solos onde se cultiva o arroz irrigado no Rio Grande do Sul, variando em função do sistema de manejo e do tipo de resíduos das plantas antecessoras ao cultivo do arroz irrigado (SOUSA, 2001; BOHNEN et al. 2005). Os ácidos propiônico e butírico são utilizados pelos microrganismos para produção de acetato por meio da acetogênese (conversão de ácidos orgânicos com mais de dois carbonos em acetato), pois não é possível que esses ácidos sejam diretamente convertidos a CH_4 pelos microrganismos envolvidos no processo da metanogênese, pelo fato dos mesmos apresentarem algumas restrições enzimáticas (BOHNEN et al., 2005).

Portanto, a decomposição da matéria orgânica do solo ou de resíduos que estejam presentes no mesmo, seguida da produção de ácidos orgânicos de cadeia curta por meio da fermentação para posterior conversão a CH_4, caracterizam um primeiro pico de emissão do CH_4 no ambiente alagado cultivado com arroz. O conhecimento da dinâmica e do potencial na produção de CH_4, em relação aos três diferentes ácidos orgânicos de cadeia curta encontrados nos solos cultivados com arroz irrigado, seriam formas de se entender a contribuição efetiva destes ácidos no processo da metanogênese.

Quando utilizados resíduos de leguminosa (ervilhaca) no solo SOUSA (2001), verificou maiores concentrações de ácido acético em solução do solo, enquanto que os resíduos de gramínea (azevém) proporcionaram maiores concentrações de ácidos propiônico e butírico. Isto deve interferir também na dinâmica do CH_4 em lavouras que utilizam estes resíduos como plantas de cobertura de inverno e tal conhecimento impactaria em uma estratégia futura de mitigação nas emissões de CH_4.

Um segundo pico de emissão de CH_4 no ambiente alagado cultivado com arroz ocorre próximo da floração, devido ao aumento da capacidade fotossintética neste período, e está associado ao fornecimento de substratos às bactérias metanogênicas por meio do carbono proveniente de exsudatos radiculares,

juntamente com pleno desenvolvimento dos aerênquimas nas plantas que contribuem para a difusão do CH_4 do solo para a atmosfera (KERDCHOECHUEN, 2005).

Pelo fato das cultivares de arroz apresentarem características morfofisiológicas distintas, associadas a maior ou menor atividade fotossintética, impulsionando a liberação de carbono via exsudatos radiculares, as seleções de cultivares aparecem como tecnologia para mitigar os efluxos de CH_4 sem diminuir a produtividade do arroz, estabelecendo uma base de mitigação e prevendo potenciais emissões (MOTERLE, 2011).

Compreender detalhadamente estes dois picos da emissão de CH_4 em lavouras de arroz irrigado seria uma base para uma possível mitigação da emissão deste gás de efeito estufa nas lavouras de arroz irrigado do sul do país. Diante do exposto, o objetivo do trabalho é conhecer a contribuição efetiva dos ácidos orgânicos acético, propiônico e butírico na dinâmica e no potencial de emissão do CH_4 em solos de terras baixas, como também classificar algumas cultivares de arroz irrigado utilizadas no Rio Grande do Sul quanto a produção de carbono orgânico liberado de exsudatos radiculares e correlacionar essa produção com aspectos agronômicos e fisiológicos das plantas e sua influência na emissão de CH_4.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 ARROZ IRRIGADO E O GÁS METANO (CH_4)

O arroz é uma cultura que responde pelo suprimento de 20% das calorias consumidas na alimentação de pessoas em todo o mundo, desempenhando assim, papel estratégico na solução de questões de segurança alimentar. O Brasil tem produzido de 11 a 13 milhões de toneladas nas últimas safras, participando com cerca de 80% da produção do Mercosul, seguido pelo Uruguai, Argentina e, por último, o Paraguai (SOSBAI, 2016). O Estado do Rio Grande do Sul (RS) é o maior produtor de arroz do país, sendo que a área cultivada na safra 2017/18 foi de mais de um milhão de hectares com produtividade estimada acima de 7.000 kg ha^{-1} (IRGA, 2018). No RS o arroz é produzido em cerca de 131 municípios localizados na metade sul do Estado, onde 232 mil pessoas vivem direta ou indiretamente da exploração desta cultura (IRGA, 2006).

A produção de arroz irrigado é considerada uma atividade impactante ao meio ambiente, por conta do volume de água expressivo utilizado na lavoura ou pela contaminação da mesma através do uso de agrotóxicos, em alguns casos, como também a emissão de gases de efeito estufa provenientes do cultivo, principalmente o CH_4. No entanto, a redução na produção desta atividade pode gerar um enorme impacto no suprimento da alimentação básica da população e na economia dos países produtores (COPETTI, 2014).

O sistema de cultivo de arroz predominante na maioria das áreas produtoras é o convencional utilizando irrigação por alagamento, o qual mantém uma lâmina de água contínua durante quase todo o ciclo da cultura (80 a 100 dias), sendo entre 15 a 20 dias após emergência e 15 dias antes da colheita (SOSBAI, 2016). O alagamento do solo durante o período de cultivo causa a diminuição do oxigênio livre, devido à baixa taxa de difusão do O_2 na água, sendo consumido rapidamente em função da necessidade de energia dos microrganismos aeróbios, que envolvem a transferência de elétrons ao O_2. Então, na ausência de oxigênio, outros íons irão funcionar como eletroaceptores na cadeia transportadora de elétrons ligada a respiração dos microrganismos e produção de energia (LE MER; ROGER, 2001).

O primeiro composto a ser utilizado como aceptor de elétrons após o O_2 é o NO_3^- proveniente da decomposição da matéria orgânica ou da adição de nitrogênio via adubação, nitrificado em zonas aeróbicas do solo. A presença de N na forma de

NO_3^- em solos alagados produz o N_2O, que é outro gás de efeito estufa; entretanto, sua produção está restrita ao curso da redução e a disponibilidade de NO_3^-. Os próximos compostos a serem reduzidos são o Mn^{4+}, seguido do Fe^{3+} e do SO_4^{-2}. Com o esgotamento dos compostos inorgânicos como aceptores de elétrons, irá se desencadear o processo no qual as bactérias anaeróbicas metanogênicas utilizam os compostos orgânicos como aceptores de elétrons (compostos orgânicos com poucos carbonos) transformando-os em CH_4 e CO_2 (SILVA et al., 2008).

A decomposição anaeróbica acontece em etapas, envolvendo diversos grupos de microrganismos na degradação dos compostos orgânicos: primeiro, os microrganismos necessitam transformar as moléculas compostas (várias cadeias de carbono) em formas simples (moléculas com poucos carbonos), ou seja, inicia-se a hidrólise de macromoléculas (lipídios, polissacarídeos, proteínas e ácidos nucléicos) a monômeros (aminoácidos, açúcares, ácidos graxos, glicerol e nucleotídeos) por microrganismos aeróbicos ou anaeróbicos facultativos e obrigatórios (MOREIRA; SIQUEIRA, 2002). A partir dos monômeros, os microrganismos anaeróbicos facultativos produzem ácidos orgânicos, como o acético, propiônico e o butírico por meio da fermentação que, posteriormente, são convertidos a acetato e H_2/CO_2, e utilizados pelas bactérias metanogênicas para produção de CH_4 (DUBEY, 2005). As bactérias que produzem o CH_4 pertencem aos gêneros *Methanobacterium*, *Methanobrevibacter*, *Methanococcus* e *Methanosarcina*, sendo que os gêneros *Methanobacterium* e *Methanosarcina* são associados a produção de CH_4 na cultura do arroz irrigado, de forma que estas bactérias são estritamente anaeróbicas e necessitam de um potencial redox (Eh) de aproximadamente -200 mV para reduzir o carbono e produzir CH_4 (DUBEY, 2005).

O início da produção de CH_4 depende da quantidade de matéria orgânica facilmente biodegradável e da magnitude do sistema redox após a redução do Fe^{3+} e do SO_4^{2-}, de modo que a disponibilidade de substratos (H_2 e acetato) no solo é o fator que limita a atividade das bactérias metanogênicas. Estas bactérias ainda têm que competir com outras bactérias anaeróbicas pelos substratos disponíveis, tais como as bactérias redutoras de Fe^{3+}, Mn^{4+} e SO_4^{2-} (DUBEY, 2005; MOTERLE, 2011). Após o início do efluxo de CH_4 no cultivo do arroz, as taxas e picos de emissão também se relacionam com a disponibilidade de substratos às bactérias. Quando retirada toda a palha de arroz do solo em trabalhos realizados no Japão ITOH et al. (2011) verificaram que a emissão de CH_4 foi observada apenas no

período de florescimento da cultura, associada a alta disponibilidade de carbono orgânico através dos exsudatos radiculares.

O fluxo de CH_4 para a atmosfera é controlado pelo gradiente de concentração entre solo alagado e atmosfera, através de três mecanismos de transporte: pelo sistema vascular das plantas, por difusão através do solo e lâmina de água e pela formação de bolhas de gás que escapam para a atmosfera (CONRAD, 2002). Sendo o mais importante o fluxo de CH_4 controlado pelo sistema vascular das plantas que se encontram em ambiente alagado, funcionando como uma verdadeira válvula de escape do gás.

Desta forma, a produção de CH_4 ocorre pela associação de fatores no cultivo do arroz irrigado por alagamento, como a existência de uma fonte de substrato disponível para as bactérias metanogênicas (compostos contendo carbono) e uma condição ambiental favorável para a atividade das bactérias (ambiente anaeróbico). Fatores que afetam os seguintes aspectos: atividade microbiana, temperatura do solo, pH e Eh do meio, disponibilidade de substratos, propriedades físicas e químicas do solo, atividades da enzima mono-oxigenase, concentrações de H_2, NH_3, NO_3^-, NO_2^- SO_4^{-2}, difusão de gás e transferências de CH_4, desenvolvimento das plantas de arroz no que se refere ao aspecto nutricional e a produção de fitomassa aérea e radicular, assim como a forma de distribuição do sistema radicular no perfil do solo, podem influenciar o efluxo de CH_4 em solos agrícolas alagados (COSTA, 2005).

2.2 ÁCIDOS ORGÂNICOS DE CADEIA CURTA E A PRODUÇÃO DE CH_4

Conforme abordado anteriormente, na ausência de compostos inorgânicos para serem utilizados como aceptores de elétrons, predomina o metabolismo anaeróbio do tipo fermentativo, no qual os compostos orgânicos do meio ou subprodutos das rotas metabólicas são utilizados como doadores e aceptores de elétrons no processo de oxirredução. A fermentação se caracteriza pela menor geração de CO_2, em relação ao metabolismo aeróbio, pela formação de compostos orgânicos de cadeia curta e baixo peso molecular, sendo ineficiente no que se refere a vias de degradação, porém, promove a quebra de substratos orgânicos complexos antes da oxidação, resultando em uma série de substâncias muitas vezes não encontradas em solos oxidados (VAZOLLER et al., 2008).

Os compostos de cadeia simples assimilados por microrganismos anaeróbicos facultativos ou obrigatórios são fermentados intracelularmente, dando origem a ácidos orgânicos de baixo peso molecular, tais como o acético (CH_3COOH), o propiônico (CH_3CH_2COOH) e o butírico ($CH_3CH_2CH_2COOH$), pelo processo da acidogênese. Logo após a acidogênese ocorre produção de acetato a partir de ácidos orgânicos com mais de dois carbonos, por meio da atividade de microrganismos anaeróbicos obrigatórios. Estes não conseguem convertê-los diretamente a CH_4, devido a limitações enzimáticas, num processo denominado acetogênese (SILVA et al., 2008).

De modo geral, na biodegradação da matéria orgânica há participação de microrganismos distintos: bactérias hidrolíticas fermentativas hidrolisam compostos orgânicos complexos em compostos orgânicos simples, em seguida, bactérias fermentativas acidogênicas, fermentam a matéria orgânica simples presente produzindo ácidos orgânicos, H_2 e CO_2, posteriormente, bactérias acetogênicas são responsáveis pela conversão de muitos dos compostos orgânicos produzidos pelos microrganismos acidogênicos em acetato e H_2 e, finalmente, bactérias metanogênicas classificadas como acetoclásticas (consumidoras de acetato) e hidrogenotróficas (consumidoras de H_2 e redutoras de CO_2) produzem o CH_4 (CHERNICHARO, 2007).

As atividades dos microrganismos metanogênicos são afetadas por muitos parâmetros, a temperatura é o mais importante deles. Os metanogênicos classificados como psicrófilos se desenvolvem melhor em temperaturas abaixo de 25 °C, os mesofílicos têm a faixa ideal de temperatura entre 25 °C e 35 °C, os metanogênicos termofílicos preferem temperaturas acima de 45 °C e as espécies hipertermofílicas têm preferência em temperaturas até 65º C (GUNERATNAM et al., 2017). Outro parâmetro que influência a atividade dos microrganismos metanogênicos inclui o pH, que para a maioria dos metanogênicos é favorável quando se está neutro, assim como, concentrações e disponibilidade de macro e micronutrientes adequadas também são importantes (DEMIREL; SCHERER, 2011).

Diversos fatores estão relacionados a produção dos ácidos orgânicos, interferindo na quantidade e diversidade dos mesmos, tais como, o teor de matéria orgânica, adição de resíduos orgânicos, manejo dos resíduos, temperatura, tipo de ácido considerado, pH do meio, entre outros. Assim, a produção de ácidos orgânicos é diretamente proporcional a quantidade de fontes orgânicas adicionadas ao solo,

seja por resíduos orgânicos incorporados ou por rizodeposição, dependendo das características dos resíduos e da eficiência da planta em exsudar mais ou menos compostos contendo carbono para utilização pelos microrganismos (NEUE et al., 1997).

Avaliando a concentração de ácidos orgânicos de cadeia curta na solução do solo em diferentes sistemas de cultivo de arroz e em duas profundidades, BOHNEN et al. (2005) observaram que a concentração dos ácidos acético, propiônico e butírico foram significativamente maiores no sistema de plantio direto do que nos sistemas convencional e pré-germinado, apesar do tipo e quantidade de resíduos orgânicos terem sido semelhantes, justificado pelo fato de que a palha misturada no perfil, em decorrência das operações de preparo destes últimos dois sistemas, favorece a oxidação de parte do carbono em condições aeróbias e/ou dilui as quantidades dos ácidos formados em condições anaeróbias na camada em que o solo foi mobilizado. Ainda, no mesmo trabalho, BOHNEN et al. (2005) observaram que as concentrações dos três ácidos sempre foram maiores aos 5 cm de profundidade, quando comparadas com a coleta aos 2,5 cm, sendo este fato relacionado às condições de menor disponibilidade de oxigênio molecular nesta profundidade, que pode aumentar a intensidade das reações de redução e a produção de ácidos orgânicos, independentemente da distribuição dos resíduos das plantas.

Outro fator importante na produção de ácidos orgânicos é como o carbono vai estar disponível a microbiota do solo para degradação, pois os diferentes resíduos vegetais vão afetar a dinâmica de liberação de elementos e compostos para a solução do solo por conta de sua composição química. Resíduos vegetais com baixa relação C/N e baixos teores de lignina promovem maior liberação de nutrientes e ácidos orgânicos para a solução do solo, quando comparados com resíduos de alta relação C/N. Assim, em sistema plantio direto, a manutenção de resíduos de leguminosas na superfície do solo causa um maior estimulo da atividade biológica do que resíduos de gramíneas aumentando a liberação de nutrientes e produção de ácidos orgânicos precursores da metanogênese (SOUSA, 2001).

As maiores concentrações de ácidos orgânicos ocorrem em solos ricos em matéria orgânica ou quando são incorporados resíduos orgânicos próximos ao início do período de alagamento (SILVA et al., 2008). Analisando o efeito de vários resíduos vegetais sobre as concentrações de ácidos orgânicos da solução do solo

em um Planossolo alagado sob condições de casa-de-vegetação, SOUSA (2001) observou que os resíduos de leguminosas (ervilhaca) promoveram maior liberação de ácidos orgânicos com concentrações maiores no início do alagamento; porém, as concentrações diminuíram rapidamente com o passar do tempo. Já os resíduos de gramíneas (azevém e aveia) promoveram maiores picos de concentração de ácidos no solo por um período mais prolongado. Ainda no mesmo trabalho, SOUSA (2001) verificou maiores concentrações de ácido acético quando utilizados resíduos de ervilhaca, enquanto que os resíduos de azevém proporcionaram maiores concentrações de ácidos propiônico e butírico. Isto deve interferir também na dinâmica do CH_4 em lavouras que utilizam estes resíduos como plantas de cobertura de inverno.

Em estudos anteriores (XU; HOSEN, 2010; ZSCHORNACK et al., 2018) observaram que a presença da palha de azevém influenciou as emissões de CH_4 no solo em cultivo de arroz irrigado, ocorrendo um aumento de até 25%. A presença de resíduos de uma cultura, utilizada como planta de cobertura de inverno no solo, pode aumentar as emissões de CH_4 aumentando a oferta de C para os metanogênicos presentes no solo como resultado também de um maior processo de redução neste (KIM et al., 2013). Avaliando a emissão de CH_4 em lavoura de arroz irrigado, no sul do país, com incorporação de resíduos de azevém BAYER et al. (2014) observaram uma emissão de CH_4 cumulativa 2,8 vezes maior de que a aplicação superficial da biomassa de azevém, devido ao aumento na concentração de carbono orgânico dissolvido e o favorecimento da decomposição desses resíduos em um ambiente reduzido em camadas subsuperficiais do solo o que auxilia na formação de ácidos orgânicos no solo a partir de processos fermentativos por bactérias anaeróbicas.

Os ácidos orgânicos podem começar a acumular-se em solos alagados onde foram adicionados resíduos orgânicos a partir do primeiro dia de alagamento, sendo a concentração destes ácidos baixa nos primeiros dias, atingindo uma concentração máxima entre duas a quatro semanas de alagamento, seguindo uma diminuição na concentração até atingir valores estáveis e baixos (SOUSA et al., 2002). A diminuição na concentração dos ácidos orgânicos após duas a quatro semanas de alagamento deve-se, provavelmente, à conversão dos ácidos orgânicos a acetato e H_2 para posterior produção de CH_4, como consequência das reações de redução em ambientes anaeróbicos (YOSHIDA et al., 1976).

Para o processo da metanogênese, como citado anteriormente, algumas espécies utilizam H_2 e CO_2, denominadas hidrogenotróficas e pertencem a este grupo as ordens *Methanococcales*, *Methanobacteriales*, *Methanomicrobiales*, *Methanopyrales*, Methanothermobacter e Methanosarcina já outras espécies consomem compostos de metil (CH_3^-) presente no acetato, denominadas acetoclásticas e pertencem a este grupo, espécies da ordem *Methanosarcinales*, Methanomassiliicoccales (LEIGH et al., 2011; OLIVEIRA et al., 2017).

A atividade de metanogênicos hidrogenotróficos é muito importante para a estabilidade de todo o processo porque eles metabolizam hidrogênio e CO_2 em CH_4 e, assim, mantêm o hidrogênio em um nível de concentração que permite a acetogênese estável resultante da atividade de microorganismos acetogênicos sintróficos, que são muito sensíveis a concentrações mais altas de hidrogênio. Metanogênicos acetoclásticos metabolizam o ácido acético em CH_4 e CO_2 e sua atividade é influenciada negativamente pela concentração de NH_3 e ácidos orgânicos de cadeia curta em suas formas não dissociadas, como também, a concentração de hidrogênio que provoca competitividade entre os organismos metanogênicos acetoclásticos com os homoacetogênicos (EL-MASHAD et al., 2004; DEMIREL; SCHERER, 2008).

Microrganismos homoacetogênicos podem competir com os metanogênicos hidrogenotróficos e utilizar hidrogênio para reduzir o CO_2 ao ácido acético. Quando o sistema não é limitado pela concentração de hidrogênio, observa-se homoacetogênese principalmente sob condições psicrofílicas, porque os homoacetogênicos estão melhor adaptados para temperaturas que os metanogênicos hidrogenotróficos e são capazes de usar além de hidrogênio uma ampla gama de substratos (KOTSYURBENKO et al., 2001). Já sob condições mesófilicas e termofílicas os homoacetogênicos geram menos energia em comparação com metanogênicos acetoclásticas, tornando-os incapaz de competir com os metanogênicos pelo substrato. Sob condições termofílicas, os homoacetogênicos podem até mudar seu metabolismo e, em vez de formar ácido acético, eles o metabolizam em H_2/CO_2, que serve como substrato para metanogênicos hidrogenotróficos (ZABRANSKA; POKORNA, 2017).

Desta forma, condições variáveis de temperatura, pH, tipo de solo, disponibilidade de nutrientes, introdução de espécies vegetais na área, interação sintrófica com outras bactérias e pressão exercida pelo H_2, vão interferir na atividade

das bactérias metanogênicas, tanto acetoclásticas como hidrogenotróficas, influenciando na capacidade de produção de CH_4 (MADIGAN et al., 2016).

2.3 EXSUDAÇÃO RADICULAR COMO FONTE PARA A METANOGÊNESE

Alguns processos governam o crescimento dos vegetais, sendo de destaque aqueles que ocorrem ao nível foliar, relacionados com a captura do carbono (fotossíntese) e a perda de água pela planta (transpiração). Um dos fenômenos biológicos naturais mais importantes para manutenção da vida na terra, a fotossíntese, é o processo em que as plantas capturaram a energia da luz solar e a converte em energia bioquímica (LARCHER, 2003). Neste processo, a energia luminosa na forma de fótons é absorvida pelas clorofilas e carotenóides presentes no mesofilo foliar, oxidando a molécula de água no fotossistema II e dando início ao transporte de elétrons entre os fotossistemas que vai impulsionar a síntese de carboidratos, culminando na redução do CO_2 e na fixação do carbono (TAKAHASHI; MURATA, 2008; SOUZA, 2016).

A fotossíntese e a transpiração estão intimamente relacionadas por meio dos estômatos, pois ao mesmo tempo em que os estômatos oferecem resistência à difusão do vapor d'água de dentro da folha para a atmosfera, constituem-se em uma barreira para a aquisição de CO_2 (PEARCY; PFTISCH, 1991).

Com um aumento da fotossíntese da planta no período reprodutivo ocorre um acumulo de biomassa, que por sua vez, aumenta a rizodeposição, influenciando na dinâmica do carbono rizosférico (KIM et al., 2001; BHATTACHARYYA et al., 2013). Este carbono rizosférico é um dos principais contribuintes no aumento e alocação de carbono lábil do solo para posterior utilização pela microbiota do mesmo, refletindo assim nas emissões de CO_2 em ambientes aeróbicos e de CH_4 em ambientes anóxicos (GARCIA-ORENES et al., 2010). CHIDTHAISONG; WATANABE (1997) utilizaram a técnica do carbono marcado (^{13}C) para demonstrar que existe uma contribuição marcante do material orgânico fornecido via exsudação radicular pelas plantas de arroz para a formação e emissão de CH_4 na fase de florescimento.

Em cultivos de espécies anuais, como o arroz, 30 a 60% do carbono fixado fotossinteticamente pela planta é translocado para as raízes e uma proporção considerável deste carbono, até 70%, pode ser libertado para a rizosfera, por meio da rizodeposição (LILJEROTH et al., 1994). Variações genotípicas nas taxas de condutância estomática foliar, assimilação de CO_2, concentração interna de CO_2,

transpiração e atividade do metabolismo fotossintético do arroz, ou seja, nas características fisiológicas, têm sido relatadas na literatura (YOSHIDA et al., 1976; DINGKUHN et al., 1991; JODO, 1995; HIRAYAMA et al., 2006; CENTRITTO et al., 2009; ADACHI et al., 2011; KUSUMI et al., 2012; GU et al., 2012; LORENÇONI, 2014).

Estas diferenças fisiológicas encontradas entre as variedades de arroz, tradicionais ou desenvolvidos por programas de melhoramento, de ciclo precoce ou de ciclo médio, podem interferir na quantidade de carbono fotoassimilado que é translocado para as raízes do arroz e em seguida exsudado na forma de carbono orgânico ou outros compostos contendo carbono. Exsudatos radiculares se constituem em um ótimo substrato orgânico para os microrganismos, que podem ser utilizados para a produção de CH_4 por bactérias metanogênicas em ambientes anóxicos (WIN et al., 2012).

As variedades de arroz irrigado podem afetar as emissões de CH_4, por possuírem um sistema denominado de aerênquima para mediar o transporte de CH_4 e O_2 entre o solo e a atmosfera e por fornecer substratos para as bactérias metanogênicas através de carbono orgânico proveniente de exsudatos radiculares e/ou células mortas das raízes (SU et al., 2015). A seleção de cultivares de arroz irrigado tem sido amplamente considerada como um dos fatores que afetam as emissões de CH_4, provenientes de plantações de arroz em locais com irrigação por inundação (LIOU et al., 2003). Portanto, as diferenças entre cultivares podem desempenhar um papel importante na regulação das emissões de CH_4 a partir das lavouras de arroz irrigado.

A atividade metanogênica em solos sob cultivo de arroz em resposta à adição de exsudatos radiculares da cultivar IR 72 no estádio de florescimento foi investigada por LU et al. (2000) confirmando que os exsudatos de raízes de arroz representam um importante substrato para atividade metanogênica em solos sob condições anaeróbicas. Da mesma forma, AULAKH et al. (2001), utilizando exsudatos radiculares das cultivares Dular, IR 72 e IR65598, coletados em quatro estágios de crescimento (fase de plântula, iniciação da panícula, floração e maturação), demonstraram que a elevada liberação de carbono de exsudados radiculares de diferentes cultivares de arroz aumentou a fonte metanogênica e a intensidade do fluxo de CH_4 no solo.

O efeito de diferentes cultivares de arroz sobre a emissão de CH_4 em um solo de terras baixas coreano foi pesquisado por KERDCHOECHUEN (2005), o autor observou que a quantidade de biomassa radicular pode indicar, de modo semelhante, a quantidade potencial de materiais orgânicos como substrato para a produção de CH_4, através de uma correlação positiva. O mesmo autor também relata que as cultivares que mais emitiram CH_4 neste estudo foram as que apresentaram um maior peso de raiz e que o peso diminuiu na fase de amadurecimento do grão, em relação as fases de máximo perfilhamento e floração. Com isso, o autor sugere que a perda de raízes funcionais e aumento da quantidade de raízes leva a uma degradação das mesmas e utilização para a formação de CH_4.

Na literatura são relatadas correlações positivas entre emissões de CH_4 e carbono orgânico de exsudados radiculares como também com compostos orgânicos de baixo peso molecular. Experimentos realizados na parte oriental da Índia obtiveram resultados de que, com maior biomassa aérea e radicular nas plantas de arroz, mais compostos orgânicos via exsudatos foram liberados e a atividade das bactérias metanogênicas foi elevada, resultando no aumento da produção de CH_4 (BHATTACHARYYA et al., 2013).

Em plantas de interesse agrícola é desejável que as mesmas possuam altas taxas fotossintéticas, que refletem em uma maior biomassa e consequentemente mais ganhos de produtividade. Entretanto, isso pode refletir em uma maior translocação de carbono fotoassimilado para as raízes, fazendo com que as plantas com altas produtividades sejam também as mais prejudiciais ao meio ambiente, pela vasta oferta de substratos orgânicos oferecidos as bactérias metanogênicas via exsudatos radiculares, finalizando em uma alta emissão de CH_4. Por consequência, tem-se buscado cultivares de arroz irrigado com alta produção e que minimizem as perdas de fotoassimilados pela exsudação de compostos orgânicos, surgindo avanços na pesquisa com uso de engenharia genética. Em um estudo recente, SU et al. (2015) introduziram um gene de transcrição do açúcar originalmente da cultura da cevada para uma cultivar de arroz irrigado, favorecendo a utilização de fotoassimilados em biossíntese de produtos orgânicos, tais como o amido, aumentando a produtividade do arroz e diminuindo a exsudação de carbono para o ambiente rizosférico.

Diferenças nos efluxos de CH_4 foram verificadas entre as cultivares utilizadas por produtores no Rio Grande do Sul em trabalho anterior desenvolvido por

MOTERLE (2011). O autor correlacionou a emissão de CH_4 com as estruturas morfológicas e anatômicas, porém não verificou efeito da parte anatômica no efluxo de CH_4 obtido entre as diferentes cultivares, indicando que parâmetros fisiológicos poderiam estar mais associados a emissão de CH_4. Porém o autor encontrou correlações positivas entre a matéria seca das cultivares e a estatura das mesmas com a emissão de CH_4. O ganho de matéria seca e a estatura das plantas dependem da atividade fotossintética das plantas e todas essas variáveis vão refletir na emissão de CH_4.

Por isso, torna-se importante a compreensão de como os fatores morfofisiológicos podem interferir na oferta de exsudatos radiculares que funcionam como fonte para o processo da metanogênese e como isso interfere na emissão de CH_4 das cultivares.

3 HIPÓTESES

Estudo I:

A dinâmica na emissão do metano é alterada em solos de terras baixas cultivados com arroz irrigado de acordo com as concentrações e tipos de ácidos orgânicos. Quanto maior for a quantidade de ácido acético maior é a emissão de metano, como também mais rápida é a emissão de metano proveniente da aplicação deste ácido em comparação com os ácidos propiônico e butírico considerando a mesma disponibilidade de carbono.

Estudo II:

As cultivares de arroz irrigado utilizadas no Rio Grande do Sul apresentam diferentes potenciais de contribuição para a metanogênese, dependendo do carbono orgânico total proveniente da exsudação radicular no estádio de florescimento pleno, o que está atrelado a aspectos agronômicos e fisiológicos das cultivares. Quanto maior for a matéria seca das plantas e a atividade fotossintética maior será a oferta de exsudatos radiculares com consequente maior emissão de CH_4 pelas cultivares.

4 OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GERAL

Verificar como os ácidos orgânicos de cadeia curta podem intervir na dinâmica e no potencial da emissão de CH_4, e avaliar a contribuição do carbono orgânico total proveniente da exsudação radicular de diferentes cultivares de arroz irrigado na emissão de CH_4.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Estudo I:

Quantificar o potencial de emissão de CH_4 quando aplicado no solo os três ácidos de cadeia curta (acético, propiônico e butírico), considerando a mesma disponibilidade de carbono.

Constatar qual a contribuição dos ácidos na dinâmica de emissão de CH_4, dependendo da quantidade de carbono aplicada em cada dose de ácido.

Correlacionar o potencial e a dinâmica da emissão de CH_4 de cada ácido com suas respectivas estequiometrias.

Estudo II:

Quantificar o carbono proveniente da exsudação radicular no estádio de florescimento pleno da cultura em diferentes cultivares de arroz irrigado.

Correlacionar o carbono orgânico derivado da exsudação das raízes com o efluxo de CH_4 e com os aspectos fisiológicos e agronômicos das cultivares.

Analisar as alterações eletroquímicas da solução do solo cultivado com arroz irrigado com ênfase no carbono orgânico dissolvido (COD).

5 ORGANIZAÇÃO DOS ESTUDOS

A presente tese foi estruturada em dois estudos, cada qual abordando uma hipótese:

Estudo I: Emissão de metano em solo de terras baixas induzida por ácidos orgânicos de cadeia curta.

Neste estudo foi testada a hipótese de que a dinâmica na emissão do metano será alterada em solos de terras baixas cultivados com arroz irrigado de acordo com as concentrações e tipos de ácidos orgânicos, sendo constituído pelo experimento: *"Dinâmica e potencial da emissão de metano em Planossolo alagado submetido a doses de ácido acético, propiônico e butírico"*.

Estudo II: Influência do carbono de exsudação radicular e de variáveis agronômicas e fisiológicas das plantas no efluxo de CH_4 em cultivares de arroz irrigado.

Neste estudo foi testada a hipótese de que as cultivares de arroz irrigado utilizadas no Rio Grande do Sul apresentam diferentes potenciais de contribuição para a metanogênese, dependendo do carbono orgânico total proveniente da exsudação radicular no estádio de florescimento pleno, o que está atrelado a aspectos agronômicos e fisiológicos das cultivares, sendo constituído por dois experimentos: "*Experimento I: Carbono orgânico total exsudado das raízes de arroz irrigado em estádio de florescimento pleno"* e *"Experimento II: Emissão de metano de diferentes cultivares de arroz irrigado, aspectos fisiológicos, agronômicos e alterações na solução do solo"*.

6 ESTUDO I: EMISSÃO DE METANO EM SOLO DE TERRAS BAIXAS INDUZIDA POR ÁCIDOS ORGÂNICOS DE CADEIA CURTA

6.1 INTRODUÇÃO

Uma complexa comunidade microbiana, envolvendo bactérias hidrolíticas, fermentadoras, acetogênicas, microrganismos sintróficos e metanogênicas são responsáveis pelo processo de degradabilidade da matéria orgânica em solos inundados, desde a transformação de moléculas compostas em formas mais simples até a produção do CH_4. O CH_4 é o segundo gás de efeito estufa em importância, após o CO_2, exercendo uma significativa influência no clima e na química da atmosfera. A adição de um mol de CH_4 na atmosfera é aproximadamente 28 vezes mais efetiva na absorção de radiação infravermelha do que um mol de CO_2 (IPCC, 2015).

A produção de CH_4 em áreas inundadas com cultivo do arroz irrigado pode ser dividida em duas fases, baseando-se na natureza do substrato metanogênico. A primeira fase resulta da decomposição da matéria orgânica inerente do solo e de compostos orgânicos previamente incorporados ou deixados na superfície do solo, como os resíduos de colheitas anteriores (YAGI; MINAMI, 1990; SASS et al., 1991; CICERONE et al., 1992, GON; NEUE, 1995; LU et al., 2000).

Bactérias hidrolíticas transformam polissacarídeos complexos, como a celulose, em compostos mais simples, tais como açúcares e aminoácidos, através de hidrolises. Posteriormente, estes compostos mais simples são fermentados intracelularmente por bactérias fermentadoras dando origem ao acetato e a ácidos orgânicos de cadeia curta, tais como propiônico e butírico, além do H_2 e CO_2 em um processo chamado acidogênese. O acetato produzido neste processo pode ser diretamente convertido a CH_4 pelas bactérias metanogênicas e as bactérias fermentadoras secundarias utilizam os ácidos orgânicos de cadeia curta para produção de mais H_2, CO_2 e acetato no processo chamado acetogênese para posterior produção de CH_4 (REITH et al., 2003; CHERNICHARO, 2007; BOHRZ, 2010; LEMOS, 2011).

Os precursores mais importantes do CH_4 em solos de terras baixas cultivados com arroz irrigado são o acetato e H_2/CO_2 que, teoricamente, contribuem com cerca de 70 e 30% para emissão de CH_4, respectivamente, utilizados pelo grupo de bactérias metanogênicas acetoclásticas que reduzem o acetato a CH_4 e CO_2, e pelas

bactérias hidrogenotróficas que reduzem o CO_2 usando H_2 como doador de elétrons (CONRAD, 1999). Temperatura, potencial redox, pH e disponibilidade de substratos orgânicos são identificados como os principais fatores que influenciam a degradação da matéria orgânica nestes processos (ZEHNDER, 1978; SCHINK, 1992; ZINDER, 1993; STAMS, 1994; FEY; CONRAD, 2000).

Algumas pesquisas relacionadas a solos de terras baixas no Rio Grande do Sul, cultivados com arroz irrigado, realizados por SOUSA (2001); SOUSA et al. (2002) e BOHNEN et al. (2005), descrevem concentrações diferenciadas de ácidos orgânicos de cadeia curta (acético, propiônico e butírico) acumulados no solo após os processos de fermentação. Estas concentrações diferem quanto ao tipo de resíduo utilizado e ao sistema de manejo empregado. Os autores também descrevem uma diminuição na concentração total dos ácidos após duas a quatro semanas de alagamento.

Esta diminuição ocorre devido à conversão dos ácidos orgânicos de cadeia curta em CH_4 (SOUSA et al. 2002). Sabe-se que o ácido acético pode ser utilizado diretamente para conversão a metano pelas bactérias metanogênicas que usam o grupo metil do ácido para a conversão. No entanto, os ácidos propiônico e butírico precisam ser convertidos antes a acetato pelo processo da acetogênese para então serem transformados em CH_4 (MADIGAN et al., 2016). Isto deve interferir na dinâmica e no potencial das emissões de CH_4 em solos de terras baixas alagados para o cultivo do arroz.

SOUSA (2001) verificou na solução do solo maiores concentrações de ácido acético quando presentes resíduos de ervilhaca no cultivo do arroz irrigado, enquanto que os resíduos de azevém proporcionaram maiores concentrações de ácidos propiônico e butírico. O conhecimento de quais ácidos estão mais presentes no solo dependendo da decomposição de variados resíduos e de como esses ácidos interferem na emissão de metano pode ser utilizado como estratégia de mitigação na emissão desse gás.

Diante do exposto, o objetivo desse trabalho é compreender como os três ácidos orgânicos de cadeia curta encontrados em maior concentração nos solos de terras baixas cultivados com arroz irrigado podem influenciar na dinâmica e no potencial da emissão de metano nestes solos.

6.2 MATERIAL E MÉTODOS

6.2.1 Experimento: Dinâmica e potencial da emissão de metano em Planossolo alagado submetido a doses de ácido acético, propiônico e butírico

6.2.1.1 Condução do experimento e delineamento experimental

Um experimento foi realizado em ambiente controlado (incubadora tipo BOD) a 30 ± 1 °C no laboratório de Química e Fertilidade do Solo da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, RS. O solo utilizado foi um Planossolo Háplico hidromórfico típico (EMBRAPA, 2013) coletado no campo experimental do Departamento de Solos da UFSM. O solo foi coletado na camada de 0-20 cm, seco ao ar e peneirado em malha de 4 mm, homogeneizado e, posteriormente, foi retirada uma alíquota e encaminhada para análise química que indicou os seguintes resultados: pH H_2O= 4,9; índice SMP= 5,5; M.O= 2,8%; argila= 40%; Ca= 6,1 $cmol_c$ dm^{-3}; Mg= 2,7 $cmol_c$ dm^{-3}; Al= 1,8 $cmol_c$ dm^{-3}; H + Al=7,7 $cmol_c$ dm^{-3}; CTC efet= 10,8 $cmol_c$ dm^{-3}; CTC pH7= 16,7 $cmol_c$ dm^{-3}; saturação por bases= 54,1%; P-Mehlich= 8,5 mg dm^{-3}; K= 64 mg dm^{-3}, seguindo metodologia de TEDESCO et al. (1995).

As unidades experimentais foram compostas de potes de vidro com capacidade para 995 mL com tampas plásticas perfuradas contendo uma mangueira de silicone de 20 cm acoplada a uma válvula de três vias para coleta do gás metano (CH_4) do "*espaço livre"* dos frascos. Nestas unidades foram acomodadas 300 gramas de solo e 350 mL de água destilada, formando uma lâmina de água de 4 cm. Em seguida o solo foi pré-incubado em incubadora tipo BOD por 20 dias, sendo mantida a lâmina de água de 4 cm para garantir as condições de anaerobiose do solo. A grande maioria do material orgânico presente no solo, tais como pedaços de raízes ou palha de culturas, foi retirado antes da pesagem para não interferir nas emissões de CH_4.

Após o período de pré-incubação, as unidades experimentais foram submetidas a um vácuo com o auxílio de uma seringa de 60 mL e injeção de N_2 no "*espaço livre"* dos frascos. Após 24 horas do procedimento de vácuo e injeção de N_2, procedeu-se a aplicação dos tratamentos. Para compor os tratamentos, utilizaram-se três diferentes ácidos de cadeia curta e quatro doses padronizadas de carbono para cada ácido (Tabela 1) constituindo, desta forma, um arranjo fatorial (3x4) em um delineamento estatístico inteiramente casualizado com 3 repetições. As doses de

carbono e o período de duração do experimento foram definidos através de dados obtidos em experimento piloto apenas com o ácido acético em quatro doses (Apêndice 1).

Tabela 1 - Tratamentos com adição de diferentes doses de carbono no solo via diferentes ácidos orgânicos de cadeia curta

Tratamento	Descrição	
	Quantidade de carbono (Dose – mg C kg^{-1} solo)	Quantidade de ácido (Dose – mg ácido kg^{-1} solo)
T_1	0 mg C kg^{-1} solo	0 mg ácido kg^{-1} solo
T_2	90 via ácido acético	225 acético
T_3	180 via ácido acético	450 acético
T_4	270 via ácido acético	675 acético
T_5	0 mg C kg^{-1} solo	0 mg ácido kg^{-1} solo
T_6	90 via ácido propiônico	183,6 propiônico
T_7	180 via ácido propiônico	370 propiônico
T_8	270 via ácido propiônico	555,1 propiônico
T_9	0 mg C kg^{-1} solo	0 mg ácido kg^{-1} solo
T_{10}	90 via ácido butírico	164,9 butírico
T_{11}	180 via ácido butírico	329,9 butírico
T_{12}	270 via ácido butírico	494,9 butírico

Os ácidos orgânicos de cadeia curta utilizados no experimento foram todos na forma de reagentes P. A. com padrões analíticos de ácido acético (pureza ≥ 99,5%), ácido propiônico (pureza ≥ 99,0%) e ácido butírico (pureza ≥ 99,7%). Uma alíquota de 30 mL correspondente aos tratamentos foi aplicada ao solo com o auxílio de uma seringa calibrada e da válvula de três vias acoplada a mangueira de silicone na tampa das unidades experimentais (Apêndice 2).

6.2.1.2 Quantificação da emissão de gás CH_4 proveniente da aplicação de ácidos orgânicos

As coletas de gás CH_4 foram realizadas a cada 24 horas após a aplicação dos tratamentos, por um período de 15 dias, com o auxílio de uma seringa de polipropileno previamente tratada com gás N_2 equipada por uma válvula de três vias. Antes de cada coleta, as unidades experimentais passavam por uma vigorosa agitação manual para homogeneização do gás que poderia estar preso em bolhas

formadas na lâmina de água e depois da coleta da amostra era realizado um novo processo de vácuo e de injeção de N_2 nas unidades experimentais. As amostras contidas nas seringas foram transferidas para frascos de vidro evacuados (*extainer*) logo após a coleta e a concentração dos gases nas amostras de ar foi determinada em cromatógrafo SHIMADZU, GC-2014 (Mod.—Greenhousell) equipado com três colunas empacotadas, funcionando a 70 °C, N_2 como gás de arraste a um fluxo de 26 mL min^{-1}, injetor com alça de amostragem direta de 1 mL e temperatura de 250 °C, detector de ionização de chama (FID) a 250ºC.

A taxa de produção de metano foi calculada conforme metodologia de AULAKH et al. (2001) por meio da Equação 1.

$$TP_{CH_4} = \frac{dc}{dt} \times \frac{V_{hs} \times MW}{W_S \times MV} \quad (1)$$

onde: TP_{CH_4} é a taxa de produção de metano (µg CH_4 g^{-1} solo dia^{-1}), dc/dt representa a alteração na concentração de CH_4 no “espaço livre” do frasco medido no aparelho (µmol d^{-1}) convertido a µg, V_{hs} é o volume livre da unidade experimental (L), MV é o volume molecular de CH_4 em 30 °C (24,88 L mol^{-1}), W_s é o peso seco do solo (g) e MW é o peso molecular de CH_4 (16 g mol^{-1}). A produção acumulada de CH_4 foi calculada somando a emissão obtida durante 24 horas com a emissão obtida no dia anterior e assim sucessivamente.

O CH_4 produzido das unidades experimentais com adição de ácidos orgânicos foi recalculado com a subtração do CH_4 produzido nas unidades experimentais sem adição de ácidos (dose de 0 mg de C kg^{-1} de solo) por meio da Equação 2.

$$P_{liqCH_4} = PCH_4sa - PCH_4sc \quad (2)$$

onde: P_{liqCH_4} é a produção líquida de CH_4 a partir dos ácidos orgânicos adicionados (*µ*g CH_4 g^{-1}solo dia^{-1}), PCH_4sa é o CH_4 produzido no solo alterado com ácidos orgânicos (*µ*g CH_4 g^{-1}solo dia^{-1}), e PCH_4sc é o CH_4 produzido no solo controle (*µ*g CH_4 g^{-1}solo dia^{-1}).

O carbono adicionado via ácidos orgânicos convertido a CH_4 foi calculada conforme Equação 3, adaptada de AULAKH et al. (2001).

$$conv.CH_4 = \left(\frac{P_{liqCH_4} \times 12}{QC_{ad} \times 16} \right) \quad (3)$$

onde: conv.CH_4 é o carbono adicionado via ácidos orgânicos convertido a CH_4, P_{liqCH_4} é a produção líquida de CH_4 a partir dos ácidos orgânicos adicionados (μg CH_4 g^{-1}solo dia^{-1}) da Equação (2), 12 é o peso molecular do C (g mol^{-1}), QC_{ad} é a quantidade de C adicionado via ácido orgânico (μg C g^{-1} solo) e 16 é o peso molecular do CH_4 (g mol^{-1}).

No cálculo das quantidades equivalentes de acetato produzido a partir de todos os ácidos orgânicos utilizados e as quantidades equivalentes de CH_4 que foram posteriormente produzidas foi assumido que todos os ácidos orgânicos de cadeia curta foram degradados em acetato, CO_2 e H_2, de acordo com as estequiometrias indicadas na Tabela 2.

Tabela 2 - H_2, acetato e CH_4 equivalentes da degradação anaeróbica de diferentes compostos intermediários.

Composto	Equivalente mol H_2	Equivalente mol acetato	Equivalente mol CH_4
Ácido acético: $CH_3COO^- + H^+ = CH_4 + CO_2$	0	1	1
H_2: $H_2 + 0{,}25\ CO_2 = 0{,}25\ CH_4 + 0{,}5\ H_2O$	1	0	0,25
Ácido propiônico: $CH_3CH_2COO^- + 3H_2O = CH_3COO^- + HCO_3^- + H^+ + 3H_2$	3	1	1,75
Ácido butírico: $CH_3(CH_2)_2COO^- + 2H_2O = 2CH_3COO^- + H^+ + 2H_2$	2	2	2,50

Adaptado de: KOTSYURBENKO et al. (2004)

6.2.1.3 Análise estatística

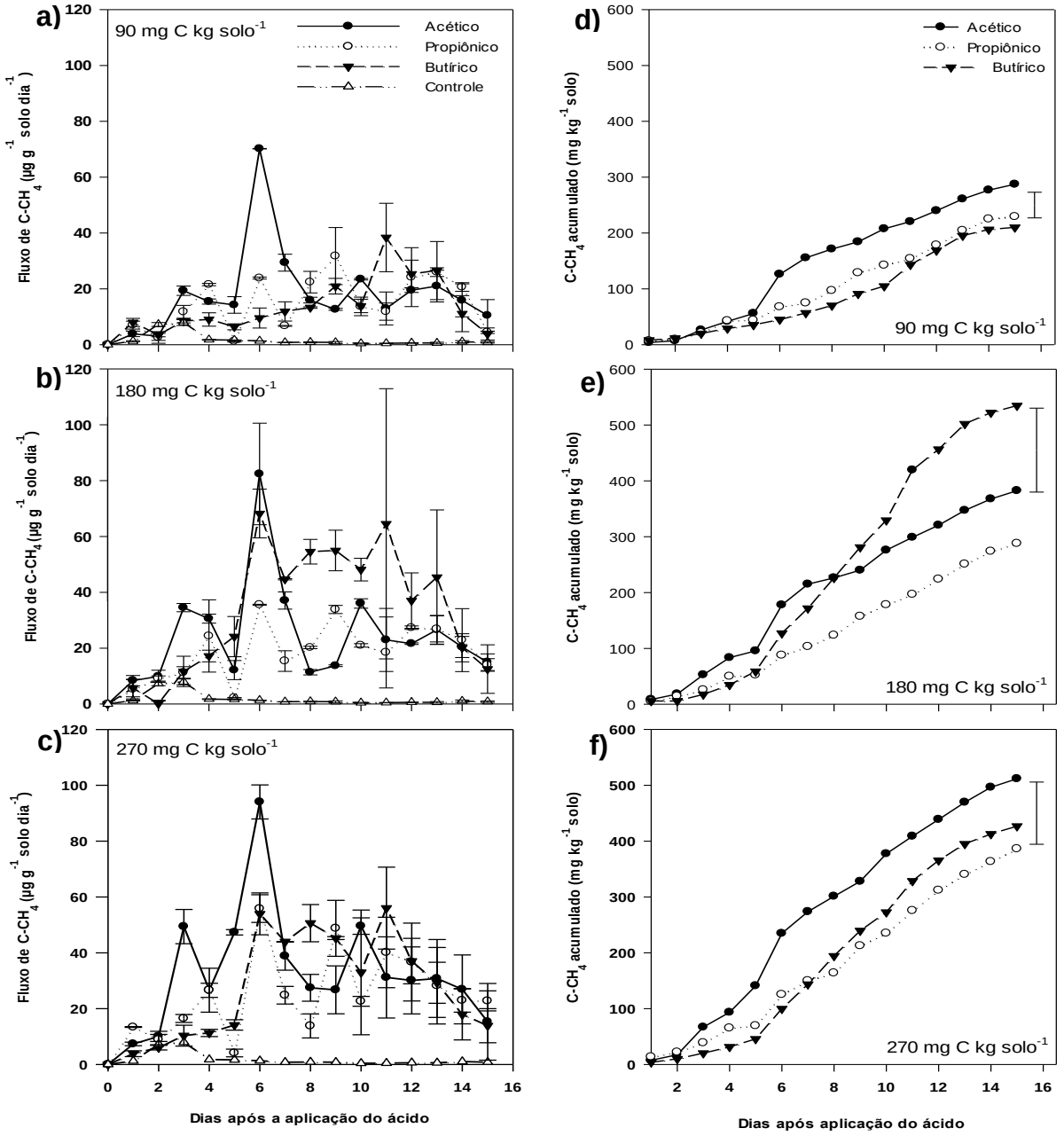
As médias e os desvios padrão (DP) dos dados apresentados de cada tratamento foram calculados com posterior análise de variância e teste F ($p<0{,}05$). Analises de regressão foram realizadas para avaliar o efeito das doses em cada ácido na emissão de CH_4, como também foi realizado teste Tukey ($p<0{,}05$) para verificar a diferença entre os ácidos, ambos com o auxílio do software estatístico SISVAR (versão 5.6).

6.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.3.1 Dinâmica de emissão do CH_4

A adição de ácidos orgânicos de cadeia curta estimulou a produção de CH_4 no Planossolo alagado, porém, com uma dinâmica de emissão diferenciada quando aplicado os três ácidos orgânicos de cadeia curta utilizando uma mesma dose de carbono (Figura 1).

Figura 1 - Fluxo de C-CH_4 após aplicação de ácidos orgânicos de cadeia curta (a, b, c). As barras verticais indicam o desvio padrão. Emissão líquida acumulada de C-CH_4 após aplicação de ácidos orgânicos de cadeia curta (d, e, f). As barras verticais indicam a diferença mínima significativa entre as médias dos tratamentos pelo teste de Tukey ($p<0,05$)



Com a adição de ácido acético houve um pico de emissão de CH_4 logo no 3º dia após a aplicação do ácido, apresentando valores de 19,3, 34,5 e 49,4 µg CH_4 g^{-1} solo dia^{-1} nas doses 90, 180 e 270 mg C kg^{-1} solo, respectivamente. Apesar de ocorrer simultaneamente, a sequência para a geração de CH_4 segue as etapas da hidrólise, acidogênese, acetogênese e metanogênese (SCHNEIDER et al., 2016). Com a oferta de ácido acético prontamente disponível no solo, ocorreu a antecipação das etapas da acetogênese e metanogênese e, consequentemente, a emissão mais rápida de CH_4 quando comparado com os outros dois ácidos e em todas as doses. Em trabalhos anteriores, analisando a emissão de CH_4 em solos incubados sob condições anaeróbicas, FEY; CONRAD (2000); KOTSYURBENKO et al. (2004) também observaram um tempo de conversão curto do acetato prontamente disponível no solo para CH_4, girando em torno de três dias.

Um segundo pico de emissão de CH_4 foi observado no 6º dia após aplicação do ácido acético, com valores de 70,2, 82,4 e 94,0 µg CH_4 g^{-1} solo dia^{-1}, respectivamente, para as três doses 90, 180 e 270 mg C kg^{-1} solo. Os microrganismos que participam do processo da metanogênese pertencem aos grupos hidrolíticos, fermentativos, sintróficos, acetogênicos e metanogênicos, os quais são estimulados pela introdução de diferentes substratos característicos no sistema microbiano (KOTSYURBENKO, 2005). Isto provavelmente favoreceu o grupo de metanogênicos que, consequentemente, permitiu a emissão mais alta de CH_4 no 6º dia.

Logo após este segundo pico, as taxas de emissão de CH_4 referentes a aplicação do ácido acético diminuíram, apresentando apenas emissão mais expressiva ao 10º dia (Figuras 1a, 1c e 1e). Nas Figuras 1b, 1d e 1f, que representam o acumulado, é possível observar que as emissões de CH_4, quando aplicado ácido acético, foram superiores as emissões obtidas com a aplicação dos outros dois ácidos, exceto na dose de 180 mg C kg^{-1} solo, onde os valores de emissão de CH_4 acumulados do ácido butírico ultrapassaram os valores obtidos pelo ácido acético.

Com relação as emissões de CH_4 quando aplicado o ácido propiônico, é possível verificar que o primeiro pico de emissão ocorreu mais tarde em relação ao ácido acético, no 4º dia após aplicação do ácido propiônico, com emissões de 21,5, 24,4 e 26,6 µg CH_4 g^{-1} solo dia^{-1} para as três doses, respectivamente. A utilização deste ácido também apresentou um segundo pico de emissão mais pronunciado ao

6º dia após aplicação dos tratamentos nas três doses de carbono, com valores de 23,8, 35,5 e 55,8 µg CH_4 g^{-1} solo dia^{-1}. Semelhante ao ácido acético, este segundo pico de emissão de CH_4 foi seguido de diminuição nas emissões, mas ocorreu um novo pico de emissão no 9º dia após a aplicação do ácido nas três doses utilizadas, com valores semelhantes ao segundo pico. Para a dose 270 mg C kg^{-1} solo ainda pôde ser observado um quarto pico de emissão no 11º dia após a aplicação do ácido, o que não ocorreu nas demais doses (Figuras 1a, 1c e 1e).

Em alguns trabalhos utilizando o ácido acético e propiônico como fonte de carbono para medição de atividade metanogênica específica em reatores de tratamento biológico do lodo de esgoto, ZHANG et al. (2008) e ZHAO et al. (2010) constataram que a degradação do ácido propiônico começa apenas quando o ácido acético, já contido no lodo, é completamente degradado. Pode-se observar que no tratamento controle há uma pequena emissão de CH_4 ao 3º dia, semelhante ao primeiro pico de emissão quando utilizado o ácido acético. Esta emissão pode ser proveniente do ácido acético endógeno do solo e depois da sua degradação foi quando o ácido propiônico começou a ser convertido a acetato para posterior emissão de CH_4.

As emissões acumuladas de CH_4 utilizando o ácido propiônico foram em menores proporções quando comparadas com as emissões obtidas pela aplicação do ácido acético, nas três doses avaliadas. Em comparação com o ácido butírico foi semelhante na dose de 90 mg C kg^{-1} solo e menores nas doses de 180 e 270 mg C kg^{-1} solo (Figuras 1b, 1d e 1f). De acordo com a estequiometria do ácido propiônico (Tabela 2), a quantidade de mol equivalente de CH_4 produzido a partir deste ácido é de 1,75, com produção de 3 mols equivalente de H_2 e 1 mol equivalente de acetato no processo da acetogênese. Quanto mais H_2 houver no meio, mais favorecida ficará a atividade de bactérias metanogênicas que utilizam o H_2 como doador de elétrons reduzindo o CO_2 para formação de CH_4, ou seja, bactérias classificadas como hidrogenotróficas. Porém, a atividade destas bactérias é mais beneficiada a temperaturas inferiores a 20°C, pelo fato, de serem classificadas como pscicrófilas (GUNERATNAM et al., 2017). Mas, no presente estudo, a temperatura foi mantida a 30°C com o intuito de beneficiar as bactérias acetoclásticas que são classificadas como mesófilas.

A metanogênese, a partir de H_2/CO_2, ocorre em proporções pequenas sob temperatura ambiente média de 25 a 30 °C, por razões termodinâmicas, existindo

duas explicações possíveis para esse evento: A composição da comunidade microbiana metanogênica muda com a temperatura e o mesmo acontece com a relativa atividade de diferentes grupos fisiológicos de microrganismos, que irão depender da sua classificação, como psicrófilos, mesófilos ou termófilos; A fluidez da membrana citoplasmática microbiana muda com a temperatura afetando de forma diferente a utilização de acetato ou H_2 (CHIN; CONRAD, 1995; ROY et al., 1997; FEY; CONRAD, 2000). A diminuição da temperatura resulta frequentemente em uma diminuição da eficiência do transporte de substâncias pela membrana plasmática e diminuição da utilização do substrato. Desta forma, o acetato tem que ser transportado sobre a membrana, enquanto H_2 é livremente difusível, ocorrendo uma inibição na utilização de acetato em relação ao H_2 com a diminuição da temperatura, como também, altas temperaturas podem limitar solubilidade de substratos gasosos tais como H_2 e CO_2 na fase aquosa (KIRCHMAN et al., 2009; ADAMS et al., 2010; DONG et al., 2018). Isto pode explicar o fato de que quando adicionado o ácido propiônico, que proporciona maiores concentrações de H_2 ao sistema, as emissões de CH_4 foram menores.

O ácido butirico foi o ácido orgânico a apresentar picos de emissões mais atrasados e mais prolongados (Figura 1). Na dose de 90 mg C kg^{-1} solo, o primeiro pico de emissão de CH_4 ocorreu apenas no 11º dia após a aplicação do ácido, apresentando um valor de emissão de 37,9 µg CH_4 g^{-1} solo dia^{-1}. Nas doses de 180 e 270 mg C kg^{-1} solo, o comportamento das emissões foram mais semelhantes, com um primeiro pico de emissão ocorrendo no 6º dia após a aplicação do ácido. Antes de ser degradado a CH_4, todos os ácidos orgânicos de cadeia curta são primeiramente degradados a H_2 e acetato (WANG et al., 2009). Isto esclarece o atraso e a prolongação dos picos de emissão de CH_4 com a aplicação deste ácido. Vale ressaltar que os valores obtidos nas emissões para a dose de 270 mg C kg^{-1} solo foram menores do que os obtidos na dose de 180 mg C kg^{-1} (Figuras 1a, 1c e 1e).

Nos processos de acetogênese e metanogênese, o ácido butírico resulta em 2 mols equivalente de H_2 e 2 mols equivalente de acetato, resultando em 2,5 mols equivalente de CH_4 (Tabela 2). Assim, os microrganismos acetogênicos endógenos do solo, além de converter os ácidos orgânicos de cadeia curta que estavam já presentes no meio, devem ter convertido uma carga alta de H_2 e acetato a CH_4,

proveniente da aplicação do ácido butírico, prolongando assim os picos de emissão do CH_4.

Como é possível observar na tabela 1, os ácidos foram padronizados para ficarem com as mesmas doses de carbono aplicadas ao solo, porém são diferentes concentrações de ácidos utilizadas para isso, o que interfere de forma direta nas quantidades de acetato, H_2 e CO_2 formadas que determinam as quantidades de C-CH_4 emitidas no experimento. Em termos gerais, as taxas de conversão de ácido butírico à CH_4 foram bem semelhantes às taxas de conversão do ácido acético à CH_4 e superiores às taxas de conversão do ácido propiônico à CH_4, principalmente nas duas últimas doses. Isto está de acordo com alguns estudos anteriores desenvolvidos por REN et al. (2003); WANG et al. (2009) que relatam taxas de conversão de ácidos orgânicos de cadeia curta a CH_4 variando na seguinte ordem: ácido acético > ácido butírico > ácido propiônico. Outros trabalhos desenvolvidos por BARREDO; EVISON (1991) e DEMIREL; YENIGUM (2002) afirmam que grande quantidade de ácido propiônico resulta em uma falha no processo metanogênico, levando a inibição da atividade de bactérias metanogênicas, enquanto que o ácido butírico melhora as taxas de conversão de ácidos orgânicos de cadeia curta a CH_4, aumentando o seu rendimento com a estimulação da atividade das bactérias metanogênicas.

Ao final do período de avaliação, a taxa de produção de CH_4 utilizando os três ácidos orgânicos diminuiu de forma constante nas três doses de carbono, chegando a valores semelhantes as taxas observadas no solo controle (Figuras 1a, 1c, 1e). Um modelo conceitual trifásico da emissão de CH_4 com fase de redução (I), fase metanogênica (II) e fase estacionária (III) foi proposto por YAO et al. (1999); YAO; CONRAD (1999). O modelo indica que a taxa de produção de CH_4 é primeiramente limitada pelos próprios metanogênicos (fase II) e, mais tarde, pela taxa de mineralização do carbono disponível a microbiota ativa (fase III). Os resultados do presente trabalho estão de acordo com este modelo conceitual trifásico.

A partir dos resultados encontrados, também é possível inferir que a estimulação da metanogênese por adição de ácidos orgânicos de cadeia curta no solo foi restrita a um período relativamente curto de 15 dias. Analisando a emissão de CH_4 em solos de terras baixas incubados anaerobicamente sob várias temperaturas, FEY; CONRAD (2000) observaram que a concentração de ácido acético, propiônico e butírico no solo incubado foram nulas após um mês de

incubação em todas as temperaturas, comprovando que os processos de acidogênese, acetogênese e metanogênese nessas condições são muito rápidos.

O processo de redução sequencial e as diferentes fases da produção de CH_4 foram caracterizados em trabalhos anteriores de incubação anaeróbica utilizando solos de terras baixas cultivados com arroz. LU et al. (2000) aplicaram acetato, glicose e palha de arroz como fonte de carbono exógena em solos incubados, AULAKH et al. (2001) estudaram a dinâmica da emissão do CH_4 com a aplicação de diferentes exsudatos radiculares provenientes das raízes do arroz. CHIDTHAISONG et al. (1999) usaram diferentes tipos de fertilização mineral e orgânica no solo e analisaram as implicações destas fertilizações na emissão de CH_4 quando aplicado acetato e glicose. Já FEY; CONRAD (2000) avaliaram a dinâmica do CH_4 em diferentes classes de solos submetidas a diferentes temperaturas de incubação. Porém, na literatura, são escassos dados referentes a dinâmica do CH_4 com a aplicação de três diferentes ácidos orgânicos de cadeia curta como fonte exógena de carbono em solo, e sim apenas na avaliação de atividade metanogênica especifica em reatores tipo UASB (Upflow Anaerobic Sludge Blanket) para tratamento biológico de esgoto, como nos trabalhos desenvolvidos por REN et al. (2003); ZHANG et al. (2008); WANG et al. (2009); HEJNFELT; ANGELIDAKI (2009); SCHNEIDERS et al. (2013); De SÁ et al. (2014).

Desta forma, o presente trabalho pode elucidar algumas dúvidas com relação a dinâmica da emissão do CH_4 proveniente da degradação de ácidos orgânicos de cadeia curta que se acumulam no solo, resultado da fermentação da matéria orgânica ou de resíduos orgânicos no início do período de alagamento para o cultivo do arroz irrigado. SOUSA (2001) verificou na solução do solo maiores concentrações de ácido acético quando presentes resíduos de ervilhaca no cultivo do arroz, enquanto que os resíduos de azevém proporcionaram maiores concentrações de ácidos propiônico e butírico. A presença da palha de azevém influenciou as emissões de CH_4 no solo em cultivo de arroz irrigado, ocorrendo um aumento de até 25% nas emissões em estudos realizados por XU;HOSEN (2010); ZSCHORNACK et al. (2018). A presença de resíduos de uma cultura, utilizada como planta de cobertura de inverno no solo, pode aumentar as emissões de CH_4 aumentando a oferta de C para os metanogênicos presentes no solo como resultado também de um maior processo de redução neste (KIM et al., 2013).

Assim de acordo com os dados obtidos no presente estudo e com dados já existentes na literatura, resíduos que proporcionam maiores concentrações de ácido acético na solução do solo quando degradados em ambiente anaeróbico são potencialmente mais responsáveis pela alta emissão de CH_4 em lavouras de arroz irrigado, no caso resíduos de leguminosas. Enquanto que, as emissões de CH_4 podem ser de menores proporções ou mais atrasadas quando presentes resíduos de gramíneas. Pelo fato, destes resíduos de gramíneas proporcionarem maiores concentrações de ácidos propiônico e butírico em solução do solo. Desta maneira, a emissão de CH_4 não está relacionada apenas com o conteúdo de carbono que é disponibilizado para a microbiota, mas também com os tipos de ácidos que são produzidos a partir da fermentação de diferentes resíduos em ambientes anaeróbicos. Compreender a dinâmica da emissão do CH_4 de cada ácido que é produzido através da fermentação dos diferentes resíduos incorporados a solo pode ajudar em uma estratégia futura de mitigação na emissão do CH_4.

6.3.2 Potencial de emissão do CH_4

As emissões totais de C-CH_4 após 15 dias de aplicação dos ácidos orgânicos de cadeia diferiram estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro entre os ácidos, quando aplicada a mesma dose de carbono (Tabela 3).

Tabela 3 - Valores médios (n=36) obtidos para emissão de C-CH_4 total, após aplicação de diferentes ácidos orgânicos de cadeia curta, sob condições controladas de laboratório.

Doses (mg C kg^{-1} solo)	Emissão total (mg C-CH_4 kg^{-1}solo)		
	Acético	Propiônico	Butírico
0	27,77 a	26,06 a	28,01 a
90	287, 12 a	229,36 ab	209,94 b
180	382,41 b	287,72 c	508,85 a
270	511,65 a	386,06 b	426,60 b

Médias seguidas de mesma letra na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p<0,05$)

Na dose de 90 mg C kg^{-1}, os ácidos acético e propiônico obtiveram os maiores valores de emissão de C-CH_4 seguidos pelo ácido butírico. Já na dose de 180 mg C kg^{-1} o maior valor de emissão de C-CH_4 foi obtido pela aplicação do ácido butírico e o menor valor foi obtido pela aplicação do ácido propiônico. Na dose de 270 mg C kg^{-1} o ácido acético voltou a ter uma maior emissão de C-CH_4 total e os

ácidos propiônico e butírico não diferiram entre si estatisticamente, apesar da emissão do ácido propiônico ser de menor proporção (Tabela 3).

Também é possível observar que a aplicação dos ácidos orgânicos elevou a emissão de C-CH_4 do solo acima dos valores aplicados (Tabela 3). Tal aumento pode ter sido devido ao deslocamento de populações ou ao aumento no número de organismos ativos no solo, resultando em uma conversão de CH_4 de outras fontes de carbono, com valores superiores ao que havia sido aplicado como substrato para as bactérias acetogênicas e metanogênicas. A este fenômeno denomina-se efeito priming, entretanto, este fenômeno ainda não é claro e mais pesquisas são necessárias para o seu melhor entendimento (KUZYAKOV, 2010). As razões para este padrão de resposta e alto potencial de produção de CH_4 endógeno do solo com a aplicação dos ácidos não são claras, sendo necessários mais estudos e experimentos mais detalhados.

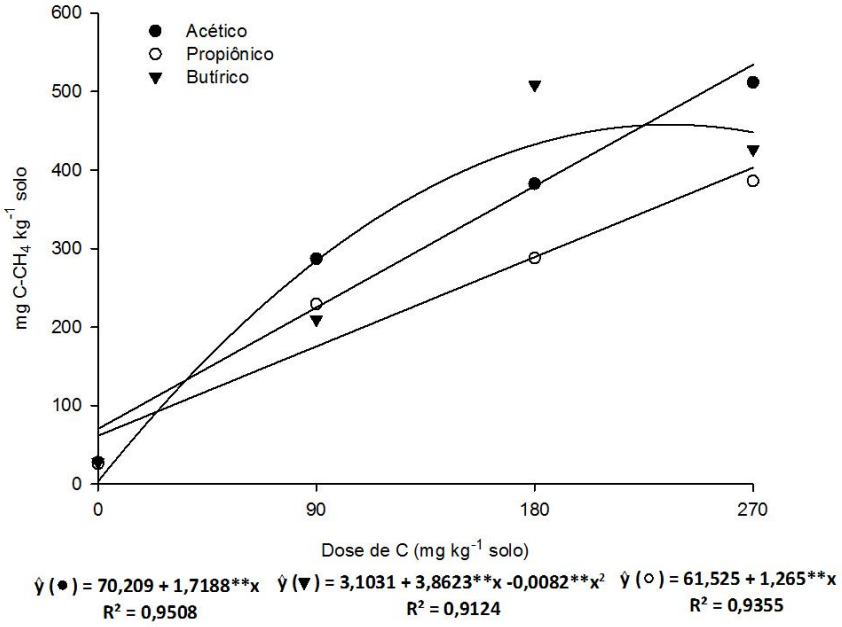
Como foi abordado anteriormente, os ácidos foram padronizados para ficarem com as mesmas doses de carbono aplicadas ao solo, porém são diferentes concentrações de ácidos utilizadas para isso, o que interfere de forma direta nas quantidades de acetato, H_2 e CO_2 formadas que determinam as quantidades de C-CH_4 emitidas no experimento. Aplicando glicose e acetato como fonte de carbono exógena em solos incubados anaerobicamente, LU et al. (2000); CHIDTHAISONG et al. (1999) também encontraram uma conversão destes compostos maior do que a esperada. CHIDTHAISONG et al. (1999) observaram que a suplementação de glicose e acetato no solo aumentou a emissão de CH_4 de 1,6 até 500 vezes mais do que o esperado, dependendo do tipo de fertilização aplicada aos solos no campo antes da incubação. LU et al. (2000), apesar de terem padronizado a glicose e o acetato com a mesma dose de carbono, como no presente estudo, também verificaram que a transformação medida e a eficiência de conversão do substrato a CH_4 ultrapassou, em grande parte, os valores máximos teóricos esperados.

O ácido propiônico foi o ácido que alcançou os menores valores na emissão total de C-CH_4 ao final do experimento. Como já foi comentado anteriormente, isto pode ser consequência da alta concentração de H_2 presente no meio, proporcionada pela degradação deste ácido, conforme sua estequiometria (Tabela 2). Como a temperatura a qual foi conduzido o experimento não beneficiava a atividade de bactérias hidrogenotróficas, pode ter ocorrido um acúmulo de H_2 no sistema, inibindo dessa forma a atividade das bactérias metanogênicas acetoclásticas.

A concentração de hidrogênio precisa ser “controlada” durante a fase metanogênica para que se possa manter o equilíbrio do processo nesta fase, o ideal é um nível baixo de pressão de hidrogênio em torno de 5,82 Pa sob condições padrão. Uma alta concentração de hidrogênio não oferece condições ambientais necessárias para que as bactérias acetogênicas consigam converter os ácidos orgânicos gerados a acetato. O acúmulo cada vez maior destes ácidos inibe a ação das bactérias metanogênicas, comprometendo a geração do CH_4 (THAUER, 2012). Por este motivo, é de extrema importância que, de alguma forma, se consiga reduzir a quantidade de hidrogênio da mistura, onde esta tarefa fundamental é realizada justamente por bactérias da metanogênese que processam o hidrogênio e o dióxido de carbono a CH_4. (BALDACIN; PINTO, 2015). Porém, a temperatura do presente experimento pode não ter favorecido estas bactérias e suas atividades podem ter ficado comprometidas.

Os dados de emissão de C-CH_4 obtidos com a aplicação dos ácidos acético e propiônico se ajustaram a um modelo linear crescente, em função das doses de carbono, enquanto que os dados obtidos com a aplicação do ácido butírico se ajustaram ao modelo de regressão quadrática (Figura 2).

Figura 2 - Regressão da emissão total de C-CH_4 em função de doses de carbono proveniente de três ácidos orgânicos de cadeia curta. ** significativo a 1% pelo teste F.



É possível observar na Figura 2 que a taxa de conversão do carbono aplicado na forma de ácido acético é maior do que a taxa de conversão do ácido propiônico, proporcionando menores emissão neste último ácido com o aumento das doses de carbono. De acordo com a inclinação da linha na regressão linear, a taxa de conversão do ácido acético a CH_4 foi em torno de 1,72 vezes e o ácido propiônico obteve uma taxa de conversão de 1,26 vezes. Esta pequena conversão obtida pela aplicação do ácido propiônico, e a consequente emissão mais baixa, só reforça a ideia já comentada anteriormente de que o acúmulo de H_2 no sistema inibe a atividade das bactérias metanogênicas acetoclásticas e esse acumulo de H_2 foi resultado da temperatura utilizada no experimento.

Baseado em considerações termodinâmicas, especificamente na energia livre de Gibbs (ΔG) resultante da oxidação dos ácidos graxos, é previsto que bactérias metanogênicas acetoclásticas sejam capazes de crescer apenas em ambientes sob baixas pressões de hidrogênio. Esta condição é alcançada quando microrganismos consumidores de hidrogênio estão presentes no sistema, tais como arquéias metanogênicas hidrogenotróficas ou bactérias redutoras de sulfato (AQUINO; CHERNICHARO, 2005; KARADAGLI; RITTMANN, 2007). A maioria dos ambientes metanogênicos mantém uma concentração de H_2 baixa o suficiente para estimular o crescimento das bactérias acetoclásticas, evitando-se o acúmulo de ácidos, porém, com a aplicação do ácido propiônico prontamente disponível no solo, uma carga alta de H_2 foi adicionada ao sistema, causando diminuição na sua eficiência.

No entanto, houve uma emissão acima dos valores teóricos, devido ao alto efeito priming alcançado com a aplicação dos ácidos. As razões para este padrão de resposta e alto potencial de produção de CH_4 endógeno do solo com a aplicação dos ácidos não são claras, sendo necessários mais estudos e experimentos mais detalhados. Um fator que pode ter favorecido esta alta emissão foi o uso constante de temperatura adequada para a atividade ótima de bactérias metanogênicas acetoclásticas, o que possivelmente superestimou esta emissão pois, a campo, como nas lavouras de arroz irrigado, são obtidas variações de temperaturas diárias, o que de certa forma, causa um balanceamento nas atividades dos grupos de microrganismos envolvidos em todo o processo da hidrolise até a metanogênese de fato.

Com relação ao comportamento do ácido butirico, pode-se inferir que houve um ponto de saturação na emissão total de C-CH_4 na dose de 180 mg C kg^{-1} solo,

pelo fato de ter se ajustado a um modelo de regressão quadrática. A conversão do ácido butírico a CH_4 rendeu quase a mesma proporção do ácido acético, apesar de ser convertido a mais acetatos. Porém, sua conversão é mais lenta, o que atrasa a emissão de CH_4 quando aplicado ácido butírico.

Em solos incubados anaerobicamente, as respostas da produção de CH_4 a substratos exógenos, contendo carbono, podem ser agrupadas em dois padrões: (1) padrões rápidos de desenvolvimento nas taxas de produção do CH_4; (2) padrões com atrasos no desenvolvimento nas taxas de produção do CH_4, dependendo do tipo de solo, arenoso ou argiloso, com menor ou maior conteúdo de matéria orgânica (CHIDTHAISONG et al. 1999, TANG et al. 2014; TETE et al. 2015; ALPANA et al. 2017). No caso do presente estudo, este agrupamento parece estar mais relacionado com o tipo de substrato que foi ofertado aos microrganismos, já que foi utilizado o mesmo tipo de solo em todos os tratamentos.

Existe uma grande incerteza nos valores apresentados pelos modelos teóricos para a medição da emissão de CH_4, uma vez que não são considerados importantes fatores de influência no processo de digestão anaeróbia, tais como os físico-químicos, os inibidores biológicos, as interações e necessidades dos diversos grupos de bactérias envolvidos no processo (EL-FADEL; MASSOUD, 2001; BOHRZ, 2010). Trabalhos envolvendo atividade metanogênica específica são geralmente realizados sob condições estéreis em mini reatores para tratamento de efluentes, doméstico ou industrial, onde se utilizam normalmente os ácidos orgânicos de cadeia curta como única fonte de carbono, porém, realizar a medição desta atividade em amostras de solo é algo mais complexo, por isso há necessidade de mais experimentos e ajustes nas metodologias para o alcance de resultados mais eficazes e mais precisos.

6.4 CONCLUSÕES

As dinâmicas de emissões de CH_4 foram alteradas com a aplicação dos três ácidos orgânicos de cadeia curta no solo, mesmo utilizando uma igual dose de carbono. A emissão mais rápida e de maior intensidade foi alcançada com a aplicação do ácido acético em relação a aplicação dos outros dois ácidos.

Quando aplicado o ácido propiônico se alcançou os menores valores de emissão de CH_4 devido a sua própria estequiometria e a condição de temperatura em que foi conduzido o experimento.

A adição de ácidos orgânicos de cadeia curta promoveu um “efeito priming” no solo com valores de conversão de carbono a CH_4 acima dos valores teóricos esperados.

7 ESTUDO II: INFLUÊNCIA DO CARBONO DE EXSUDAÇÃO RADICULAR E DE VARIÁVEIS AGRONÔMICAS E FISIOLÓGICAS DAS PLANTAS NO EFLUXO DE CH_4 EM CULTIVARES DE ARROZ IRRIGADO

7.1 INTRODUÇÃO

O arroz (*Oryza sativa* L.) é um dos principais cereais consumidos pela população e sua produção representa cerca de 30% da produção mundial de grãos. O Brasil aparece entre os oito países de maior produção de arroz, segundo dados da SOSBAI (2016). Dentre os Estados brasileiros produtores deste cereal, o Rio Grande do Sul destaca-se como o maior produtor nacional e sua participação na produção brasileira atinge em torno de 70% do total produzido, correspondente a uma produção acima de 7 toneladas/ano (SOSBAI, 2016), sendo esta oriunda, na sua maioria, de sistema de cultivo irrigado por inundação.

Aproximadamente 80 milhões de hectares são administrados sob irrigação por inundação contínua, representando 75% da produção mundial de arroz (IRRI, 2013). Estima-se que essa produção corresponda, em nível mundial, por 15% a 20% das emissões de metano (CH_4), cuja a geração no solo está relacionada à decomposição microbiana de materiais orgânicos em ambiente anóxico (LE MER; ROGER, 2001). Dessa forma, a produção de arroz tem uma contribuição para o aumento da concentração de gases de efeito estufa na atmosfera, com reflexos para as expectativas de aquecimento global de origem antrópica. Todavia, diferentemente das áreas de pântanos ou de inundações naturais, a produção de arroz em áreas de terras baixas envolve uma série de sistemas de cultivo e práticas agrícolas que podem afetar de forma diferenciada as emissões de CH_4. Assim, é importante identificar, entre as práticas culturais utilizadas na cultura do arroz, alternativas capazes de mitigar as emissões desse gás, preferencialmente sem afetar a produtividade da cultura.

As variedades de arroz irrigado podem afetar as emissões de CH_4, pelo fato destas plantas possuírem um sistema denominado aerênquima, para mediar o transporte de CH_4 para a atmosfera, e por fornecer substratos para as bactérias metanogênicas através do carbono orgânico proveniente de exsudatos radiculares e/ou células mortas das raízes (SU et al., 2015). Diversos trabalhos encontrados na literatura relatam a existência de variabilidade entre cultivares de arroz quanto à emissão de CH_4 (MOTERLE, 2011; GUTIERREZ et al., 2013; SU et al., 2015). Para

a maioria das cultivares, a maior taxa de emissão de CH_4 é verificada na fase reprodutiva, mais precisamente na fase de florescimento pleno, estando relacionada com o aumento dos compostos orgânicos que são exsudados das raízes, servindo como substrato para as bactérias metanogênicas, e com o pleno desenvolvimento dos aerênquimas e demais estruturas morfológicas que contribuem para a difusão do CH_4 para a atmosfera (RUSCHEL, 1992).

Esse aumento no conteúdo de compostos orgânicos exsudados nas raízes das plantas se deve ao aumento da capacidade fotossintética para posterior enchimento dos grãos de arroz, pois a fotossíntese é um processo fundamental para a produção de biomassa (JIANG et al., 2000). Com o aumento na produção de biomassa nas cultivares de arroz pode ocorrer um aumento na translocação de fotoassimilados para as raízes destas cultivares, como o carbono orgânico, que posteriormente é exsudado (NTANOS; KOUTROUBAS 2002; FALQUETO et al., 2009).

Vários autores encontraram correlações positivas entre a matéria seca de cultivares de arroz e o conteúdo de carbono orgânico exsudado de suas raízes (AULAKH et al., 2001; KERDCHOECHUEN 2005; BHATTACHARYYA et al., 2013). Desta forma, sabendo que a exsudação afeta a emissão de CH_4, estudos sobre aspectos agronômicos e fisiológicos que interferem na capacidade de exsudação radicular do carbono orgânico nas cultivares de arroz irrigado devem ser desenvolvidos na busca por uma mitigação do efluxo de CH_4 nos arrozais irrigados.

Diante do exposto, o objetivo desse trabalho é avaliar algumas cultivares de arroz irrigado quanto a aspectos agronômicos e fisiológicos das plantas e a produção de carbono orgânico liberado na forma de exsudatos radiculares bem como correlacionar essas variáveis com a emissão de CH_4 durante o cultivo do arroz.

7.2 MATERIAL E MÉTODOS

7.2.1 Experimento I: Carbono orgânico total exsudado das raízes de arroz irrigado em estádio de florescimento pleno

7.2.1.1 Condução do experimento e delineamento experimental

O experimento foi conduzido em vasos na casa de vegetação do Departamento de Solos da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, RS no ano agrícola 2015/2016, entre os meses de dezembro de 2015 a abril de 2016. Em solução nutritiva foram cultivadas quinze cultivares de arroz irrigado, em um delineamento experimental inteiramente casualizado com três repetições. As características principais das cultivares utilizadas constam na Tabela 1.

Tabela 1 - Descrição das características das cultivares utilizada no experimento em casa de vegetação no experimento I

Cultivar	Grupo	Ciclo[(1)] (Dias)	Perfilhamento[(1)]	Tipo de [(1)] arquitetura da planta	Floração plena (Dias)
Blubelle	Japônica	115 P	Média	Intermediária	85
BRS Atalanta	Indica	100 P	Alta	Moderna	80
BRS Pampa	Indica	118 P	Alta	Moderna	70
BRS Querência	Japônica	110 P	Alta	Moderna	85
BRS Taim	Indica	130 M	Alta	Moderna	95
Carnaroli*	Japônica	105 P	Média	Tradicional	65
Embrapa 130	Japônica	115 P	Média	Intermediária	85
IAS Formosa	Japônica	140 M	Média	Tradicional	95
IRGA 421	Indica	95 P	Alta	Moderna	65
IRGA 422	Indica	121 M	Alta	Moderna	90
IRGA 424	Indica	132 M	Alta	Moderna	96
IRGA 426	Indica	125 M	Alta	Moderna	96
IRGA 428	Indica	125 M	Alta	Moderna	86
IRGA 430	Indica	120 P	Alta	Moderna	90
Koshihikari*	Japônica	100 P	Média	Tradicional	80

[(1)] Dados de Moterle (2011), Marchesan (2005), Terres et al. (2004) e nos materiais de divulgação dos detentores das cultivares, com exceção das identificadas com * cujos dados são obtidos com cultivo em casa se vegetação. P= Precoce, M= Médio.

As plantas foram cultivadas individualmente até o período de florescimento pleno de cada cultivar em vasos de plástico (capacidade para 7 litros) contendo 6 litros de solução nutritiva formulada segundo FURLANI; FURLANI (1988), composição da solução na Tabela 2. Para isso, as sementes das cultivares de arroz foram embebidas em água destilada permanecendo à 25°C, no escuro, durante 48

horas. As sementes pré-germinadas então, após 48 horas, foram transferidas para bandejas plásticas revestidas com papel toalha e parcialmente fechadas, sendo irrigadas com água destilada por sete dias. Após este período as plântulas de arroz foram transferidas para o cultivo em solução nutritiva contendo metade da força iônica por 7 dias, para não causar estresse salino as plântulas de arroz e, consequentemente, estresse osmótico e turgor na célula. Após esse período as plantas foram cultivadas em solução nutritiva com força iônica total até o florescimento pleno onde, periodicamente, era realizada a correção do pH da solução com HCl ou NaOH, ambos a 1N, e troca regular da mesma à medida que as plantas absorviam os nutrientes em solução (Apêndice 3).

Tabela 2 - Composição da solução nutritiva utilizada para o experimento I

Solução-estoque		Relação	Solução nutritiva	
Componentes	**Concentração**	**Estoque/ Solução**	**Nutrientes**	**Concentração**
	g/litro	mL/litro		mg/litro
			$N\text{-}NO^-_3$	48.00
$(NH_4)_2SO_4$	56.6	1.0	**$N\text{-}NH^+_4$**	12.00
$Ca(NO_3)_2.4H_2O$	202.3	2.0	**Ca**	200.0
$CaCl_2$(anidro)	90.9	4.0	**K**	200.0
K_2SO_4	55.8	7.6	**Mg**	40.5
$MgSO_4.7H_2O$	136.9	3.0	**P**	8.0
KH_2PO_4	35.1	1.0	**S**	151.0
$FeSO_4.7H_2O$	24.1	1.0	**Cl**	234.0
Na EDTA	25.1		**Fe**	4.95
$MnCl_2.\ 7H_2O$	2.34	1.0	**Mn**	0.67
H_2BO_2	2.04		**B**	0.36
$ZnSO_4.7H_2O$	0.88		**Zn**	0.20
$CuSO_4.5H_2O$	0.20		**Cu**	0.05
$Na_2MoO_4.2H_2O$	0.26		**Mo**	0.11

7.2.1.2 Quantificação do carbono orgânico total de exsudatos radiculares

No estágio de florescimento pleno as plantas de arroz foram retiradas dos vasos contendo solução nutritiva e as raízes passaram por um processo de lavagem com água destilada. Cada planta individual foi colocada em frascos de vidro

(contendo 600 mL de meio de recolha - solução de $CaSO_4$ a 0,01mol L^{-1}), em uma posição tal que o sistema de raízes da planta ficou submergido completamente no meio de recolha e a parte aérea ficou exposta por um período de 2 horas. Um controle, ou seja, uma solução de $CaSO_4$ a 0,01mol L^{-1} sem planta era sempre incluído nos tratamentos e as coletas ocorriam sempre no mesmo horário evitando qualquer variação por mudança de temperatura diurna.

Imediatamente após a coleta, cada amostra da solução de exsudatos foi filtrada por um filtro de membrana de 0,45 µm auxiliado por uma bomba de vácuo para remover detritos da raiz e de células microbianas. Nestas amostras foi analisado o carbono orgânico total (COT), utilizando o aparelho analisador de carbono orgânico total TOC-LCPH/CPN (apêndice 2). Em seguida, cada planta foi seccionada em raízes e parte aérea e, posteriormente, secas a 65 ºC em estufa com circulação de ar forçada até peso constante para quantificação da produção de matéria seca (Apêndice 3).

As taxas de exsudação de COT liberado pelas raízes das cultivares de arroz foram calculadas por meio da Equação 1 conforme metodologia de AULAKH et al. (2001).

$$TEX_{COT} = \frac{C_{\exp} - C_C \times 600 \times 24}{PC} \qquad (1)$$

onde: TEX_{COT} é a taxa de exsudação de COT liberado pelas raízes das cultivares de arroz irrigado (mg C $planta^{-1}$ dia^{-1}), C_{exp} é o carbono exsudado por planta (mg mL^{-1}), 600 é a quantidade do meio de recolha utilizado para cada planta (mL $planta^{-1}$), 24 é a quantidade de horas do dia e PC é o período de coleta (2 horas).

O carbono exsudado por unidade de matéria seca foi calculado por meio da Equação 2 conforme metodologia de AULAKH et al. (2001).

$$CEX_{MS} = \frac{C_{\exp}}{MSR + MSPA} \qquad (2)$$

onde: CEX_{MS} é o carbono exsudado por unidade de matéria seca das plantas (mg C g^{-1} de matéria seca), C_{exp} é o carbono exsudado por planta (mg C $planta^{-1}$), MSR é a matéria seca da raiz (g $planta^{-1}$), MSPA é a matéria seca da parte aérea (g $planta^{-1}$).

7.2.1.3 Análise estatística

Para as variáveis avaliadas, foram calculadas as médias e o desvio padrão (DP) seguida da análise de variância (teste F, $p<0,05$). Quando significativa, as médias das cultivares foram comparadas pelo teste Scott-Knott ($p<0,05$). Posteriormente, coeficientes de correlação de Pearson (r) também foram determinados para avaliar o grau de associação entre o COT da exsudação radicular das cultivares e a produção de matéria seca das plantas, tanto total como raiz e parte aérea separadamente e a significância dos coeficientes foi avaliada pelo teste t de Student. Os testes foram realizados com o auxílio do programa computacional em genética e estatística (Genes), desenvolvido por CRUZ (2006).

7.2.2 Experimento II: Emissão de metano de diferentes cultivares de arroz irrigado, aspectos fisiológicos, agronômicos e alterações na solução do solo.

7.2.2.1 Condução do experimento e delineamento experimental

No ano agrícola 2016/2017, entre os meses de dezembro de 2016 a abril de 2017, um experimento foi conduzido em vasos contendo solo na casa de vegetação do Departamento de Solos da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, RS. O solo utilizado foi um Planossolo Háplico Hidromórfico típico (EMBRAPA, 2013) coletado no campo experimental do Departamento de Solos da UFSM. O solo foi coletado na camada de 0-20 cm, seco ao ar e peneirado em malha de 4 mm. Após a coleta do solo o mesmo foi encaminhado ao laboratório de química e fertilidade do solo do CCR-UFSM, onde foram determinadas as seguintes características: textura, porcentagem de argila, matéria orgânica, pH em água e índice SMP, Ca trocável, Mg trocável, K trocável e P disponível, assim como calculadas a CTC potencial e efetiva, a saturação por base e a saturação por alumínio, seguindo metodologia de TEDESCO et al. (1995). (Tabela 3)

Tabela 3 - Características do Planossolo Háplico utilizado no experimento.

Características para correção da acidez do solo e calagem									
pH		**Ca**	**Mg**	**Al**	**H+Al**	**CTC efet**	**Saturação**		**Índice SMP**
H_2O		cmol$_c$ dm^{-3}					Al	Bases	
4,9		6,1	2,7	1,8	7,7	10,8	16,7	54,1	5,5
Características para recomendação de adubação NPK e relações molares									
% MO	**% Argila**	**Textura**	**P-Mehlich**		**K**	**CTC pH7**	**K**	**(Ca+Mg)/K**	**K/(Ca+Mg)$^{1/2}$**
.....m/v.....			mg/dm^{-3}		cmol$_c$ dm^{-3}		mg/dm^{-3}		
2,8	40,0	3,0	8,5		0,164	16,7	64,0	54,00	0,055

A acidez do solo foi corrigida, bem como aplicou-se manejo da adubação nitrogenada, visto que os demais nutrientes P e K já se encontravam em níveis satisfatórios para uma expectativa de resposta a adubação média, segundo as recomendações técnicas da SOSBAI (2016). Utilizou-se $CaCO_3$ para correção da acidez do solo e N na forma de $(NH_4)_2SO_4$ para o manejo da adubação nitrogenada, todos na forma de reagentes P.A. Na montagem do experimento, o $CaCO_3$ em uma dose correspondente a 1,62 g kg^{-1} de solo e 50% da dose total de $(NH_4)_2SO_4$ 175 mg kg^{-1} de solo foram aplicados os 50% restantes da dose total de $(NH_4)_2SO_4$ foi subdividido e aplicado no início do perfilhamento (estádio V_3/V_4) e no estádio de diferenciação de panícula (estádio R_1) conhecido como “ponto de algodão”.

Nesse experimento foram utilizadas as cultivares com maior e menor concentração de carbono orgânico total exsudado de suas raízes quantificados no experimento anterior em cultivo hidropônico. As cultivares utilizadas foram, as cultivares de ciclo precoce: BRS Pampa, Koshihikari, IRGA 421, IRGA 430 e BRS Querência e cultivares de ciclo médio: BRS 7 Taim, Embrapa 130, IRGA 428, IRGA 422 CL e IAS Formosa.

Inicialmente, as sementes de arroz foram embebidas em água destilada permanecendo à 25 °C, no escuro, durante 48 horas. Em seguida, as sementes pré-germinadas foram transferidas para bandejas plásticas parcialmente fechadas e revestidas com papel toalha, sendo irrigadas com água destilada por sete dias. Após este período 15 plântulas de arroz foram transferidas para os vasos contendo solo em umidade de capacidade de vaso, com realização do desbaste sete dias após o transplante, deixando-se apenas seis plantas por vaso. Aos 15 dias após transplante, em que as plantas atingiram em torno de 10 cm de altura e se encontravam no estádio V_4 para V_5, os vasos foram alagados formando inicialmente

uma lâmina de água de 2 cm de altura e na medida em que as plantas cresciam aumentava-se a lâmina até no máximo 10 cm para todos os vasos.

A unidade experimental foi constituída de vasos de PVC com dimensões de 40 cm de altura e 25 cm de diâmetro (0,049 m^2) que receberam 7 kg de solo homogêneo, os quais foram distribuídos em bancada sob um delineamento inteiramente casualizado com três repetições.

7.2.2.2 Amostragem e análise do CH_4

Os vasos permaneceram sob alagamento contínuo e foi realizada a coleta do CH_4 quinzenalmente, iniciando as coletas quinze dias após o alagamento. A coleta do CH_4 foi realizada utilizando o método da câmara fechada estática de MOSIER (1989), em intervalos de 5 minutos, nos tempos 0, 5, 10 e 15 mim, com o auxílio de uma seringa plástica (20 mL) previamente tratada com gás N_2 e equipada com uma válvula de três vias, sempre das 08:30 ás 11:00 hs da manhã. As amostras contidas nas seringas foram transferidas para frascos de vidro evacuados (*extainer*), logo após a coleta, em laboratório, para posterior quantificação do CH_4. Por ocasião das coletas foram medidas a temperatura no interior da câmara e a altura da lâmina de água, a qual foram utilizadas na determinação do volume de ar da câmara para os cálculos da taxa de emissão do gás (Apêndice 4).

A concentração do gás nas amostras de ar foi determinada, em cromatógrafo SHIMADZU, GC-2014 (Mod.—Greenhouse‖), equipado com três colunas empacotadas funcionando a 70 °C, com N_2 como gás de arraste a um fluxo de 26 ml min^{-1}, injetor com alça de amostragem direta de 1 ml e temperatura de 250°C, detector de ionização de chama (FID) a 250ºC. O fluxo de CH_4 foi calculado com base na Equação 3.

$$f = \frac{\Delta Q}{\Delta t} \times \frac{PV}{RT} \qquad (3)$$

onde: f é o fluxo de CH_4 (mg CH_4 m^{-2} h^{-1}), ΔQ é a quantidade do gás na câmara no momento da coleta (mg CH_4/câmara), P é a pressão atmosférica (atm) no interior da câmara assumida como 1 atm, V é o volume da câmara (L), Δt é o tempo de coleta, R é a constante dos gases ideais (0,08205 atm.L mol^{-1} K^{-1}) e T é a temperatura no interior da câmara no momento da coleta (°K).

A taxa de aumento do gás (por minuto), no interior da câmara, foi obtida pelo coeficiente angular da equação da reta ajustada entre a concentração dos gases e o tempo de coleta, gerada no Excel pela fórmula da projeção linear. A partir dos valores de fluxo calculados por dia, estimou-se a emissão total do período pela integração da área sob a curva obtida pela interpolação usando o programa computacional Sigmaplot®.

7.2.2.3 Amostragem e análises da solução do solo

Coletas da solução do solo foram realizadas concomitantemente as coletas do gás, visando relacionar as alterações nas características eletroquímicas com a emissão do CH_4 nas diferentes cultivares, com ênfase no carbono orgânico dissolvido (COD).

Previamente ao plantio do arroz, na montagem das unidades experimentais, foram instalados tubos de PVC (10 cm de comprimento x 2,5 cm de diâmetro), o qual ficaram alojados a 10 cm de profundidade do vaso e a 5 cm abaixo do nível do solo. Com auxílio de uma furadeira foram realizados furos por toda extensão do tubo, os quais foram recobertos com tela de poliamida com porosidade de 80 µm e tecido “bidim”, assim como as extremidades do tubo. Neste mesmo tubo foi conectada uma mangueira de silicone (3mm de diâmetro x 50cm de comprimento), a qual foi equipada com uma válvula de três vias para encaixe de uma seringa de polietileno de 60 ml, com a qual foi realizada a sucção para extração das amostras de solução do solo (Apêndice 4).

Nestas amostras, com potenciômetros portáteis foram medidos o pH e o potencial redox (Eh), imediatamente após a coleta. Logo após, a solução foi filtrada em um filtro de membrana de 0,45 µm, com o auxílio de um holder para membrana 25mm por ação mecânica e retirada uma alíquota de 30 mL, a qual foi transferida para frascos de acrílico contendo 1 mL de HCl 1 mol L^{-1}, 10 ml para quantificação dos teores de ferro e manganês (espectrofotômetro de absorção atômica) e 20 mL não acidificados que foram transferidos para frascos de plástico rígido para quantificação dos teores de COD (analisador de carbono orgânico total TOC-LCPH/CPN).

7.2.2.4 Quantificação dos parâmetros fisiológicos

Visando relacionar a emissão de CH_4 com aspectos fisiológicos foi utilizado um medidor portátil de trocas gasosas por infravermelho “Infra Red Gas Analyser – IRGA”, modelo LI-6400XP, LI-COR, onde algumas variáveis fisiológicas foram medidas, tais como a taxa líquida de assimilação de CO_2 – fotossíntese (A-µmol CO_2 m^{-2} s^{-1}), a condutância estomática (gs-mol H_2O $m^{-2}s^{-1}$), a taxa de transpiração (E-mmol H_2O m^{-2} s^{-1}), a concentração de CO_2 intercelular (ci-µmol CO_2 mol^{-1}), e a partir destas, foi possível calcular a eficiência do uso da água (EUA-mol CO_2 mol H_2O^{-1}) e a eficiência instantânea de carboxilação (A/ci- µmol m^{-2} s^{-1} Pa^{-1}), dividindo a taxa de assimilação líquida de CO_2 pela taxa de transpiração e pela concentração de CO_2 intercelular, respectivamente.

As leituras para medição dessas variáveis ocorreram em fases fenológicas diferentes, de acordo com a escala proposta por COUNCE et al. (2000). A primeira leitura foi realizada quando as cultivares precoces se encontravam no estádio de florescimento pleno “antese” (R_3/R_4) e as cultivares de ciclo médio na fase de emborrachamento para exserção da panícula (R_2/R_3). A segunda leitura ocorreu quando as cultivares de ciclo precoce se encontravam entre os estádios (R_6/ R_9), que compreende a maturação fisiológica e o ponto de colheita, e as cultivares de ciclo médio se encontravam em sua maioria no estádio de “antese” entre os estádios (R_3/R_5). Foram escolhidas duas plantas por vaso que apresentavam estatura maior e folhas bandeiras mais expandidas, de modo que uma folha bandeira de cada planta foi marcada para a realização das leituras no terço médio da folha. Essas leituras ocorreram sempre no mesmo horário (08:30 às 11:00) com condições boas de luminosidade e radiação solar (Apêndice 4).

7.2.2.5 Quantificação dos parâmetros agronômicos

Alguns aspectos agronômicos das cultivares foram quantificados ao final do ciclo de cada uma delas, como massa seca da parte aérea, número de panículas e produtividade. A trilha dos grãos das panículas foi realizada manualmente e os grãos passaram por um processo de limpeza para separação das ráquis e das espiguetas estéreis. Após essa operação, os grãos foram pesados e a produção foi calculada em g $vaso^{-1}$. Na quantificação da matéria seca da parte aérea, entraram como componentes da matéria seca as ráquis provenientes das panículas e as espiguetas estéreis, todo material foi posteriormente acomodado em sacos de papel

devidamente identificados e secos em estufa com ventilação de ar forçada a 65 °C até massa constante, em seguida, verificou-se a massa seca em balança eletrônica digital com precisão de 0,01g. Os resultados foram expressos em g vaso^{-1} (Apêndice 4).

7.2.2.6 Análise estatística

Foram calculados as médias e desvio padrão (DP) dos dados e realizada análise de variância e teste F ($p<0,05$), com posterior teste de médias Tukey ($p<0,05$) para as alterações da solução do solo e valores acumulados da emissão de CH_4, assim como, teste Scott-Knott ($p<0,05$) para os caracteres agronômicos e fisiológicos. Foram estimadas as correlações fenotípicas e genotípicas entre os caracteres agronômicos e fisiológicos, o COT da exsudação radicular do experimento anterior no período de florescimento pleno das cultivares, a emissão pontual de CH_4 em duas datas e o acumulado final. As correlações fenotípicas foram estimadas pelo teste t e a significância das correlações genotípicas foram avaliadas pelo "*bootstrap"* com cinco mil simulações. Para classificação da magnitude das correlações, adotou-se a classificação proposta por SHIMAKURA; RIBEIRO JUNIOR (2012) de acordo com a magnitude das correlações, dividindo nas seguintes classes: 0,0 a 0,19 – muito fraca; de 0,20 a 0,39 – fraca; de 0,40 a 0,69 – moderada; de 0,70 a 0,89 – forte; e de 0,90 a 1,00 – muito forte.

Realizou-se o diagnóstico de multicolinearidade das variáveis agronômicas, fisiológicas, do COT da exsudação radicular e das emissões de CH_4, para posterior procedimento de análise de trilha dos dados *(path analysis)*. O grau de multicolinearidade foi estabelecido conforme os critérios sugeridos por MONTGOMERY; PECK (1981), que utilizaram os valores do fator de inflação da variância (FIV) e do número de condição (NC) para identificar os caracteres que contribuíram para o aparecimento da multicolinearidade. As variáveis que contribuíram para a multicolinearidade moderada a severa foram eliminadas da análise de trilha. Os procedimentos estatísticos foram realizados com o auxílio do programa computacional em genética e estatística (Genes), desenvolvido por CRUZ (2006).

7.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

7.3.1 Quantificação do carbono exsudado de raízes de cultivares de arroz irrigado e correlação com a matéria seca

As cultivares de arroz irrigado apresentaram diferenças significativas na quantidade de carbono exsudado pelas raízes no estádio de florescimento pleno. O maior valor de carbono exsudado foi encontrado na cultivar BRS Taim seguida das cultivares BRS Pampa e IRGA 428, destas apenas a cultivar BRS Pampa de ciclo precoce. Valores menores de carbono de exsudados foram encontrados em 8 cultivares, Koshihikari, IRGA 421, Embrapa 130, IRGA 422, IAS Formosa, IRGA 430, IRGA 426 e BRS Querência. Valores intermediários de carbono exsudado foram observados nas cultivares Bluebelle, BRS Atalanta, Carnaroli e IRGA 424. Esse padrão de diferença entre cultivares se repete nas variáveis de exsudação radicular por matéria seca e matéria seca total da planta, como também matéria seca da parte aérea e raiz (Tabela 4).

Tabela 4 - Valores médios (n=45) obtidos para Carbono exsudado de raízes de cultivares de arroz irrigado no estádio de florescimento pleno e matéria seca total, da raiz e da parte aérea.

Tratamentos	Exsudação radicular		Matéria seca da planta	Matéria seca parte aérea	Matéria seca raiz
	mg C planta^{-1} dia^{-1}	mg C g^{-1} de matéria seca	.....g planta^{-1}.....		
Blubelle	125,2 c	1,72 b	73,0 b	57,8 b	15,3 c
BRS Atalanta	93,9 c	1,44 b	66,0 b	46,9 c	19,1 b
BRS Querência	54,9 d	0,57 c	96,7 b	79,5 b	17,1 c
Carnaroli	136,0 c	1,64 b	82,8 b	66,1 b	16,7 c
EMBRAPA 130	20,7 d	0,37 c	54,1 c	41,0 c	13,0 d
IRGA 421	19,8 d	0,23 c	82,0 b	66,1 b	15,9 c
Koshihikari	1,5 d	0,04 c	38,6 d	27,8 d	10,8 d
BRS Pampa	273,9 b	3,36 a	80,7 b	64,4 b	16,3 c
IRGA 430	33,6 d	0,45 c	77,9 b	61,7 b	16,2 c
BRS Taim	394,3 a	2,92 a	136,1 a	115,0 a	21,1 b
IAS Formosa	54,4 d	0,71 c	76,7 b	60,8 b	15,9 c
IRGA 422 CL	29,8 d	0,35 c	85,8 b	67,5 b	18,3 b
IRGA 424	103,3 c	0,72 c	141,0 a	117,7 a	23,3 a
IRGA 428	252,1 b	2,04 b	124,5 a	105,4 a	19,2 b
IRGA 426	60,1 d	0,71 c	84,8 b	66,2 b	18,6 b
Média	110	1,15	86,71	69,61	17,08
CV (%)	43	44,38	10,36	11,92	10,83

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p<0,05$).

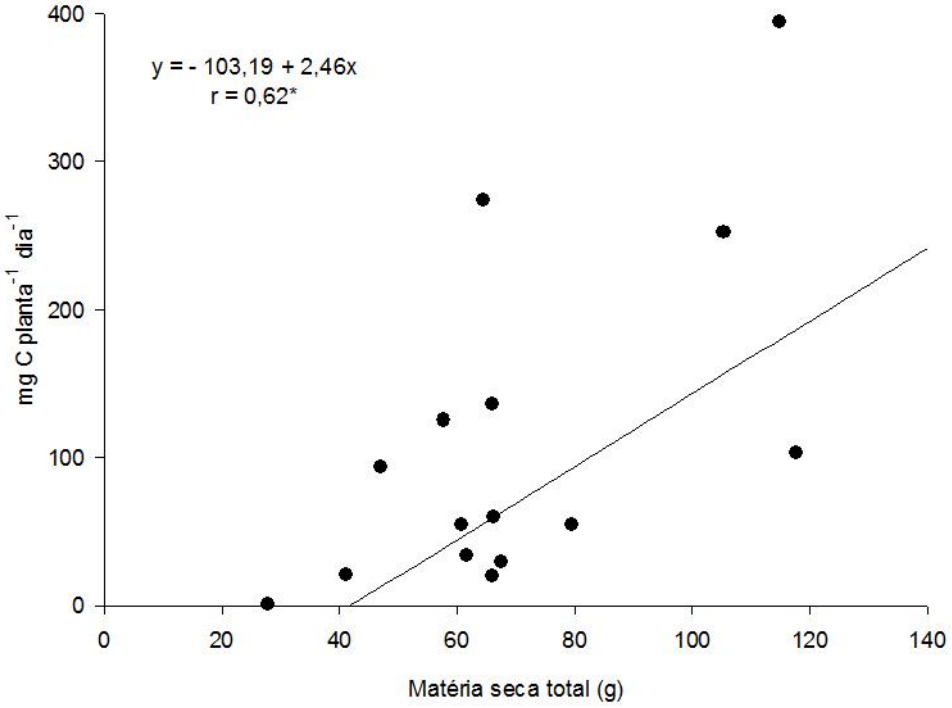
De maneira geral, as cultivares de ciclo precoce foram as que obtiveram menores valores de carbono exsudado de suas raízes Tabela 4. Essas cultivares de ciclo precoce são potencialmente mitigadoras do efluxo de CH_4, em função do menor tempo em que as plantas ficam no campo e menor produção de matéria seca. Quanto mais tempo as cultivares permanecem no campo, maiores taxas fotossintéticas são obtidas, ocorrendo um acúmulo maior de biomassa, com consequente maior translocação de carbono para raiz e maior rizodeposição de carbono no solo (BHATTACHARYYA et al., 2013).

A produção de biomassa pode indicar a quantidade potencial de materiais orgânicos rizodepositados que servem como substratos para a produção de CH_4. Esta rizodeposição de material orgânico ocorre por meio de um processo passivo de difusão direta através da bicamada lipídica da membrana plasmática das células das raízes dependendo do estágio fisiológico da planta (KERDCHOECHUEN, 2005). Uma série de trabalhos mostraram que os exsudatos de raízes possuem produtos que funcionam como fonte de carbono, tais como os açúcares, ácidos orgânicos de baixo peso molecular, carbono orgânico e até mesmo compostos orgânicos provenientes da autólise de raízes (CHIDTHAISONG; WATANABE, 1997; AULAKH et al., 2001; KERDCHOECHUEN 2005). Esses trabalhos também relatam que todos esses produtos orgânicos funcionam como fonte para a formação e emissão de CH_4 em ambientes anaeróbicos e que há um aumento nessa exsudação logo após o máximo perfilhamento até o florescimento pleno da cultura, havendo uma diminuição no período de enchimento de grãos.

A correlação apresentou-se positiva entre carbono de exsudatos de raiz e matéria seca total das plantas (r=0,62), demostrando que o COT exsudado das raízes é impulsionado pela matéria seca (Figura 1).

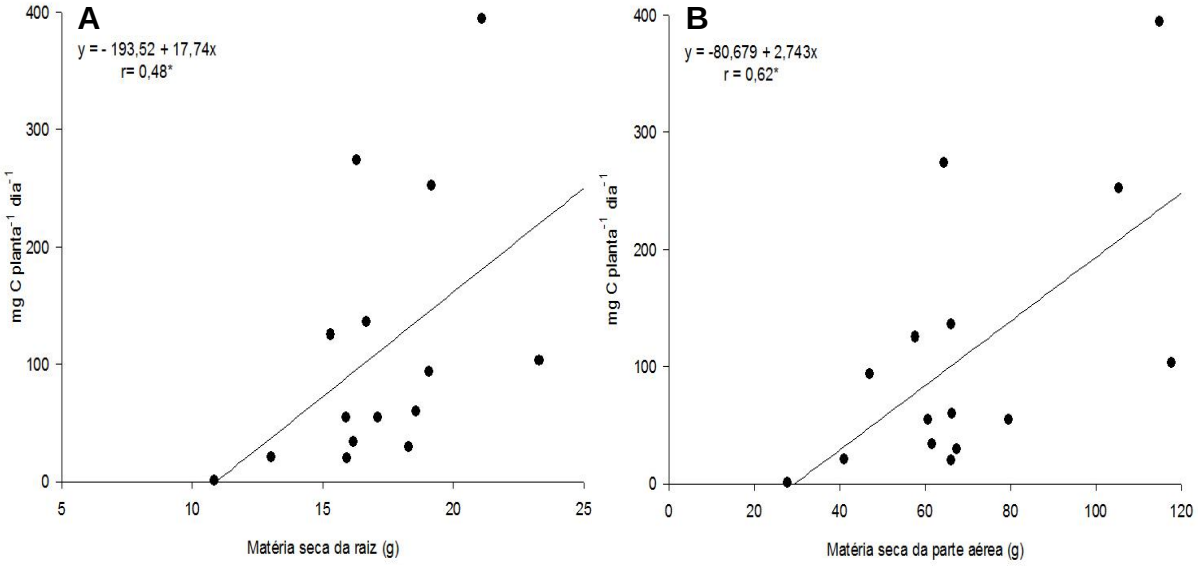
Quando a planta apresenta um maior acumulo de biomassa, em consequência de uma atividade fotossintética mais intensa, aumenta a sua rizodeposição, influenciando na dinâmica do carbono rizosférico (KIM et al., 2001). E essas novas entradas de carbono ao solo em forma de rizodeposição se tornam o principal contribuinte para que no ambiente rizosférico, ocorra um aumento da alocação de carbono e um aumento na reserva de carbono lábil do solo (PENDALL et al., 2004).

Figura 1 - Correlação entre concentração de carbono em exsudatos de raízes de cultivares de arroz irrigado e matéria seca total das plantas. Dados obtidos (n=45) de 15 cultivares em estádio de florescimento pleno. *Significativo a 5% de probabilidade.



Com relação a matéria seca da parte aérea e da raiz, as correlações mostraram-se positivas quanto ao teor de COT exsudado das raízes de cultivares do arroz irrigado, foram encontrados os valores de associação r=0,62 e r=0,48, respectivamente (Figura 2). Em trabalhos anteriores, avaliando a exsudação de carbono orgânico de raízes de dez cultivares de arroz irrigado e correlacionando essa exsudação a matéria seca da parte aérea e raiz, AULAKH et al. (2001) encontraram resultados semelhantes, com correlações positivas entre a matéria seca da parte aérea e raiz com o carbono exsudado, de modo que nesta última a correlação foi menor. Estes resultados sugerem que uma produção de matéria seca da parte aérea da planta mais elevada, resulta no aumento das exsudações de COT a partir das raízes, pois 30 a 60% do carbono fotossintetizado em plantas anuais é transferido para as raízes das plantas e uma parte substancial dessa porcentagem é realocada ou exsudada pelas raízes na forma de carbono orgânico (LILJEROTH et al., 1994).

Figura 2 - Correlação entre concentração de carbono em exsudatos de raízes de cultivares de arroz irrigado e matéria seca da parte aérea (A); Correlação entre concentração de carbono em exsudatos de raízes de cultivares de arroz irrigado e matéria seca da raiz (B). Dados obtidos (n=45) de 15 cultivares em estádio de florescimento pleno. *Significativo a 5% de probabilidade.



Essa maior correlação obtida entre a matéria seca da parte aérea com carbono orgânico exsudado da raiz foi observada principalmente nas cultivares de ciclo médio com relação as cultivares de ciclo precoce. As cultivares de arroz irrigado de ciclo médio apresentam maior biomassa total, maior número de perfilhos e, consequentemente, maior atividade fotossintética e produção de substratos orgânicos pelas raízes. Isso pode afetar a comunidade de bactérias metanogênicas no solo com consequente mudança na dinâmica da emissão de CH_4, quando utilizada essas cultivares (GUTIERREZ et al., 2013).

Cultivares de ciclo médio de arroz irrigado são, geralmente, as mais utilizadas pelos produtores nas lavouras por apresentarem alto rendimento de grãos, principalmente, por meio de maior aporte de biomassa em consequência da alta atividade fotossintética. Porém, esse maior aporte de biomassa aérea pode gerar maior exsudação de material orgânico pelas raízes. Com isso, as cultivares mais produtivas podem ser também as que mais emitem CH_4, utilizando material orgânico exsudado das suas raízes como substrato para a atividade de bactérias metanogênicas.

A assimilação de CO_2 pela maioria das folhas dos vegetais, no processo fotossintético, resulta em sacarose e amido como produtos finais (TAIZ et al., 2017).

No caso do arroz, isso confere a característica de alto teor de amilose dos grãos. Assim, a quantidade de carbono fixado alocado para a síntese do amido se diferencia da quantidade de carbono translocado para as raízes com posterior exsudação. Em estudos recentes, SU et al. (2015) introduziram um gene de sinalização da transcrição do açúcar da cevada (SUSIBA2) em uma cultivar de arroz irrigado que favoreceu a utilização de fotossintatos, tal como o carbono na biomassa aérea das plantas, principalmente na biossíntese do amido nos grãos, diminuindo a translocação de carbono fotoassimilado para as raízes que, posteriormente, é exsudado e pode ser utilizado para suprir as necessidades energéticas das bactérias metanogênicas.

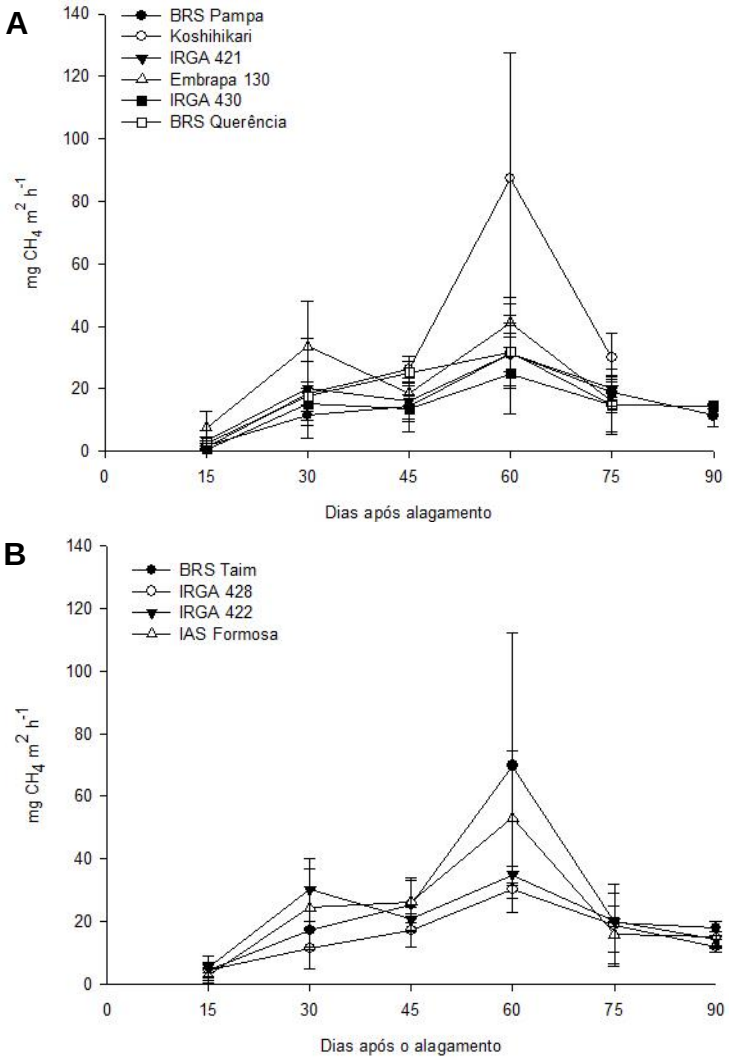
Dessa forma, mesmo que as cultivares apresentem elevada biomassa aérea, como no caso das cultivares de ciclo médio utilizadas pelos produtores do Rio Grande do Sul, elas podem ser mitigadoras da emissão de CH_4 em arrozais sem diminuir a produtividade da cultura, se aplicadas técnicas de engenharia genética.

7.3.2 Emissão de metano em cultivares de arroz irrigado

O efluxo de CH_4 avaliado nas dez cultivares de arroz irrigado seguiu um padrão semelhante durante o experimento, onde foram divididas em cultivares de ciclo precoce e de ciclo médio (Figura 3). Na primeira coleta de CH_4, 15 dias após o alagamento, foram encontrados os menores valores de emissão de CH_4, de modo que o solo ainda estava em processo de redução de compostos, tais como nitrato e compostos contendo ferro e manganês para posterior redução de compostos orgânicos e emissão de CH_4.

Após 30 dias de alagamento do solo, ocorreu o primeiro pico de emissão de CH_4, possivelmente relacionado ao carbono lábil já existente no solo. Com o aumento na disponibilidade deste carbono lábil, ocorre a emissão de CH_4, pois este carbono se constitui como substrato para as bactérias metanogênicas (EL-SHARKAWI et al., 2009). Nesse período também ocorre um maior desenvolvimento das plantas de arroz que se encontravam no estádio de perfilhamento ativo, o que contribui para emissão de CH_4 por intermédio da planta através dos aerênquimas em desenvolvimento. No arroz existem aerênquimas, mesmo quando cultivado nas condições aeradas, porém, quando cultivado sob condições anaeróbicas, os aerênquimas são maiores e mais desenvolvidos, aumentando a capacidade de transporte de CH_4 (CONRAD; KLOSE 1999; MOTERLE, 2011).

Figura 3 - Taxas de efluxo de CH_4 em cultivares de arroz irrigado em função do alagamento do solo durante o ciclo da cultura em casa de vegetação. (A) cultivares de ciclo precoce, (B) cultivares de ciclo médio. As barras verticais indicam o desvio padrão.



Após 60 dias de alagamento, ocorreram os valores máximos de emissão de CH_4 em todas as cultivares, devido ao período de florescimento pleno da cultura (em torno dos 65 a 75 dias após o transplante). Nesta fase, o arroz está com suas estruturas morfológicas completamente desenvolvidas, principalmente os aerênquimas, aumentando o coeficiente de difusão de CH_4 na planta, permitindo altos efluxos deste gás para a atmosfera (BARUAH et al., 2010; YU et al., 2013), como também, é nesse período que ocorre grande exsudação radicular. A alta exsudação radicular aumenta a disponibilidade de compostos orgânicos, incluindo o carbono orgânico fotossintetizado e translocado para a raiz, que funciona como

substrato para as bactérias metanogênicas produzirem CH_4, aumentando a produção deste no solo (QIN et al., 2015).

Logo após esse segundo pico de emissão de CH_4 mais pronunciado, aos 75 dias após alagamento, houve uma redução na emissão do mesmo em todas as cultivares. Neste período a maioria das cultivares já se encontravam no estádio de enchimento de grãos e início de maturação fisiológica. O declínio na emissão de CH_4 após a floração é observado, geralmente, pela diminuição de tecidos vivos sob a forma de aerênquima para transferência do CH_4 do solo a atmosfera e um declínio na disponibilidade de carbono via exsudados radiculares. O carbono fotossintetizado passa a ser utilizado para o desenvolvimento do grão e a oferta via translocados de fotoassimilados para as raízes fica reduzida (BARUAH et al., 2010). Esse efluxo se manteve praticamente o mesmo 90 dias após alagamento. Neste caso, as cultivares Koshihikari, IRGA 421, Embrapa 130 e BRS Querência já haviam sido colhidas, por se tratarem de cultivares de ciclo precoce.

Quanto as diferenças entre as emissões de CH_4 nas cultivares de ciclo precoce e médio (Figura 3) é possível observar que as cultivares de médio ciclo em geral emitiram mais CH_4 na fase de florescimento pleno do que as cultivares de ciclo precoce, com exceção da cultivar precoce Koshihikari, que alcançou um valor de 87,44 mg CH_4 m^2 h^{-1}, de modo que este foi o valor mais alto encontrado dentre os dois grupos de cultivares nesta fase. Vale ressaltar também que o valor de emissão obtido pela cultivar Embrapa 130 foi de 41,22 mg CH_4 m^2 h^{-1}, um pouco acima dos valores em média encontrados nas demais cultivares de ciclo precoce.

Na classificação das cultivares de arroz pelo tipo de arquitetura são encontradas diversas nomenclaturas, de modo que a cultivar Koshihikari é classificada como tradicional e a Embrapa 130 como intermediária, e as demais cultivares de ciclo precoce utilizadas neste trabalho são classificadas como moderno-filipino ou americano, o que pode explicar as maiores emissões de CH_4 alcançadas por essas cultivares, apesar de serem de ciclo precoce. As cultivares de arroz tradicional apresentam plantas de porte alto, com folhas longas e decumbentes, crescimento exuberante e raiz pouco fasciculada, já as cultivares modernas são de porte baixo, folhas eretas, alta capacidade de perfilhamento e sistema radicular mais fasciculado e ramificado (SOSBAI, 2016).

Trabalhos anteriores envolvendo cultivares tradicionais e modernas, desenvolvidos por MOTERLE (2011) e YU et al. (2013), também encontraram menor

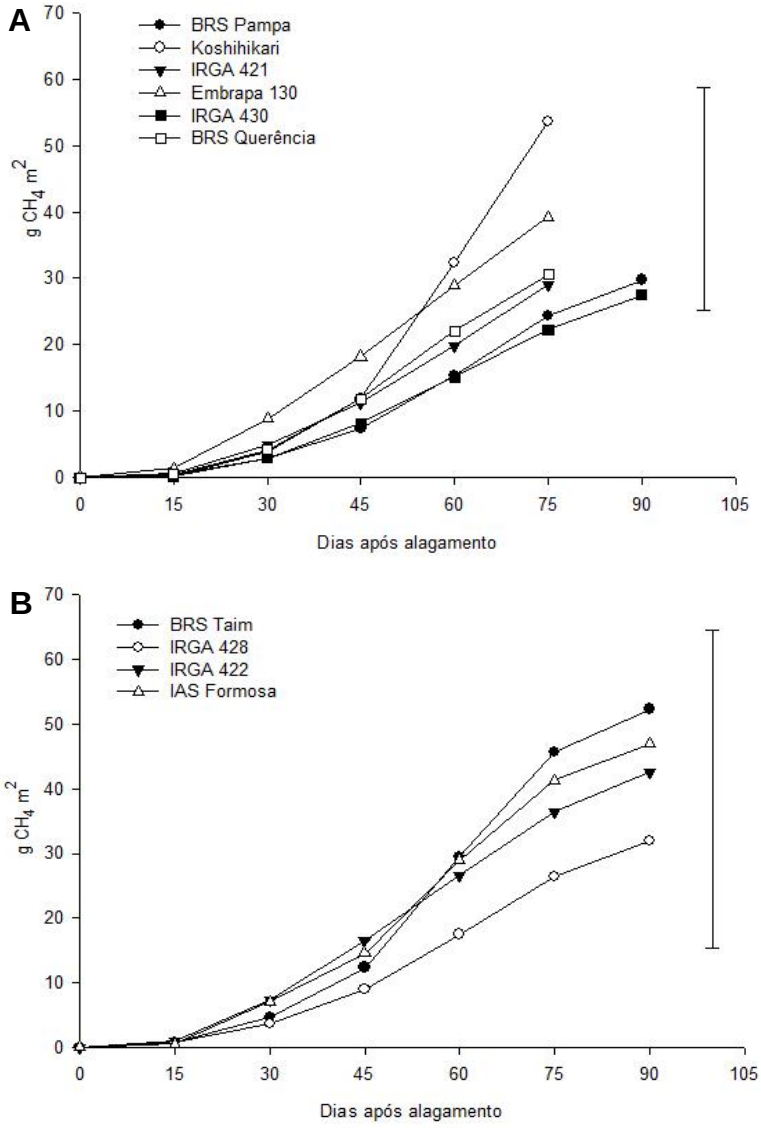
emissão de CH_4 em cultivares modernas, por possuírem um sistema radicular mais forte com capacidade de liberar mais oxigênio para oxidação do CH_4 formado no solo. Assim, as bactérias metanotróficas atuam mais do que as bactérias metanogênicas, além de maior área foliar que as cultivares tradicionais apresentam, que aumenta a área de transporte do CH_4 do interior da planta para a atmosfera via estruturas como estômatos e microporos.

O comportamento das cultivares em geral foi semelhante aos encontrados por MOTERLE (2011) em trabalho anterior, onde o mesmo classificou a cultivar IAS Formosa com alto potencial de efluxo de CH_4 e as cultivares Koshihikari, IRGA 422 e Embrapa 130 com médio potencial de efluxo, e BRS Querência com baixo potencial de efluxo. O que diferiu entre os trabalhos foram as cultivares IRGA 421 e BRS Taim, classificadas anteriormente com médio e baixo efluxo onde, no presente trabalho, foram classificadas com baixo e alto efluxo, respectivamente.

A cultivar IRGA 421 é classificada com arquitetura do tipo Moderno-filipino de ciclo precoce, características essas que auxiliam para que essa cultivar tenha uma baixa emissão de CH_4. Além disso, essa cultivar obteve valor baixo de carbono exsudado das suas raízes (Tabela 4), diminuindo a oferta de carbono para a microbiota metanogênica que o utiliza como matéria-prima na produção de CH_4, o que pode explicar esse baixo efluxo, diferentemente da cultivar BRS Taim que também é classificada como moderna mas possui ciclo médio e obteve um valor alto de carbono orgânico exsudado de suas raízes (tabela 4).

Nas emissões acumuladas de CH_4 é possível observar que as cultivares de ciclo médio foram as cultivares a emitir mais CH_4 com relação as cultivares de ciclo precoce, onde nestas destacam-se as emissões acumuladas obtidas pelas cultivares Embrapa 130 e Koshihikari. Este destaque é consequência da alta emissão de CH_4 obtida por essas cultivares, aos 60 dias após alagamento do solo, o que contribui para uma maior emissão acumulada de CH_4 ao final do período (Figura 4).

Figura 4 - Emissão acumulada de C-CH_4 em cultivares de arroz irrigado em função do alagamento do solo durante o ciclo da cultura em casa de vegetação. (A) cultivares de ciclo precoce, (B) cultivares de ciclo médio. As barras verticais indicam a diferença mínima significativa entre as médias dos tratamentos pelo teste de Tukey ($p<0,05$)



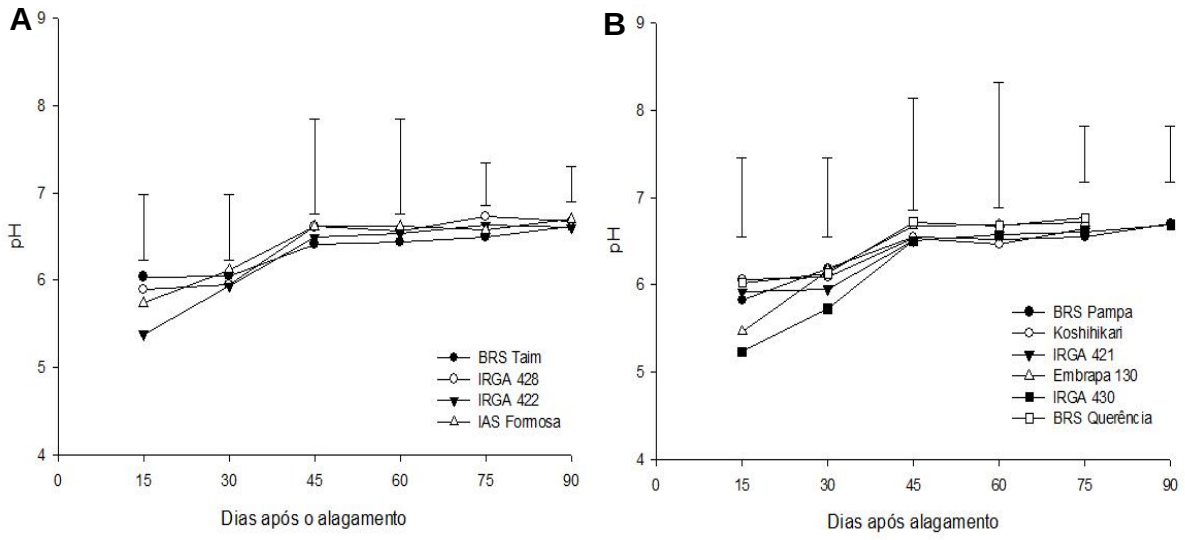
A escolha da variedade de arroz pode ser uma questão ambiental importante, pois pode influenciar tanto na quantidade de carbono orgânico exsudado das raízes, na capacidade de oxigenação do solo causada pela atividade oxidase da ponta da raiz e no período em que a planta permanece no campo (WIN et al., 2012), onde o tipo de arquitetura e o ciclo influenciam de forma direta nesses aspectos.

7.3.3 Alterações químicas na solução do solo cultivado com arroz irrigado

Com relação as alterações químicas na solução do solo, no decorrer do experimento, os valores de pH foram crescentes ao longo do experimento,

independente da cultivar utilizada (Figura 5), ocorrendo uma estabilização nos valores após 45 dias do alagamento do solo. Os valores da primeira leitura de pH, aos 15 dias após alagamento, foram de 5,2 a 6,1 nos dois grupos de cultivares, já os valores finais foram bem mais semelhantes, 6,6 a 6,8, em consequência da estabilização no ambiente totalmente reduzido.

Figura 5 - Valores de pH da solução do solo em função do alagamento do solo durante o ciclo da cultura do arroz irrigado em casa de vegetação. (A) cultivares de ciclo médio, (B) cultivares de ciclo precoce. As barras verticais indicam a diferença mínima significativa entre as médias dos tratamentos pelo teste de Tukey (p<0,05) a cada coleta da solução.

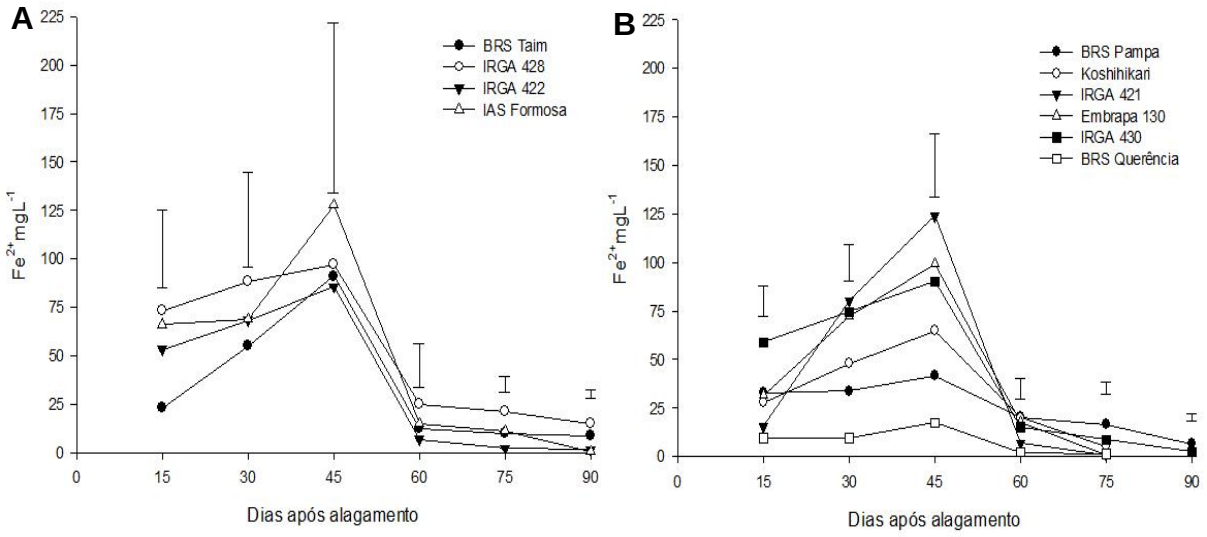


O aumento do pH após a submergência depende não somente da relação do íon OH^- e do consumo do íon H^+, mas também da relação de íons H^+ consumidos/elétrons consumidos. Para o aumento do pH, duas condições são necessárias: um processo de redução bem desenvolvido e a presença suficiente de ferro reduzido. A explicação provável é que as substâncias, tais como compostos ferrosos (Fe^{2+}), sulfeto e amônia, formadas sob condições reduzidas, são mais básicas do que sob condições oxidadas (CAMARGO et al., 1999; SILVA et al., 2008).

As concentrações de Fe^{2+} na solução do solo obtiveram uma variação bastante ampla, de 0,44 mg L^{-1} a 127,8 mg L^{-1} no decorrer do experimento (Figura 6). Os valores nas concentrações de Fe^{2+} em solução foram aumentando gradativamente até os 45 dias após alagamento, registrando os maiores picos de

concentração em todos os tratamentos. Isto ocorreu concomitantemente com a estabilização dos valores de pH e, logo após este pico, houve uma queda brusca na concentração 60 dias após alagamento, com uma estabilização nos valores nas coletas seguintes.

Figura 6 - Teores de Fe^{2+} da solução do solo em função do alagamento do solo durante o ciclo da cultura do arroz irrigado em casa de vegetação. (A) cultivares de ciclo médio, (B) cultivares de ciclo precoce. As barras verticais indicam a diferença mínima significativa entre as médias dos tratamentos pelo teste de Tukey ($p<0,05$) a cada coleta da solução.



Durante o alagamento, a concentração de Fe^{2+} aumentou até atingir um máximo, diminuindo em seguida. Este comportamento varia em razão do pH, da temperatura, do teor e da degradabilidade da matéria orgânica, do tamanho e da diversidade da população microbiana (DORAN et al., 2006; KÖGEL-KNABNER et al., 2010; SCHMIDT et al., 2013). Quanto maior for a quantidade de material orgânico facilmente decomponível, maior será a atividade dos microrganismos e mais intensa será a redução do solo.

As cultivares de ciclo precoce se diferenciaram mais com relação a concentração de Fe^{2+}, destacando as cultivares IRGA 421 e Embrapa 130 com maiores concentrações, e a cultivar BRS Querência com a menor concentração. As cultivares IAS Formosa e Embrapa 130, além de apresentarem maiores concentrações de Fe^{2+} também apresentaram valores de emissão de CH_4 um pouco elevados, com exceção da cultivar IRGA 421. Com relação as diferenças nas

concentrações de Fe^{2+}, dividindo os tratamentos entre cultivares de ciclo médio e precoce (Figura 6), foi possível constatar que as concentrações de Fe^{2+} foram mais semelhantes entre as cultivares de ciclo médio, com destaque para a cultivar IAS Formosa que apresentou o maior pico de concentração de Fe^{2+} aos 45 dias após alagamento.

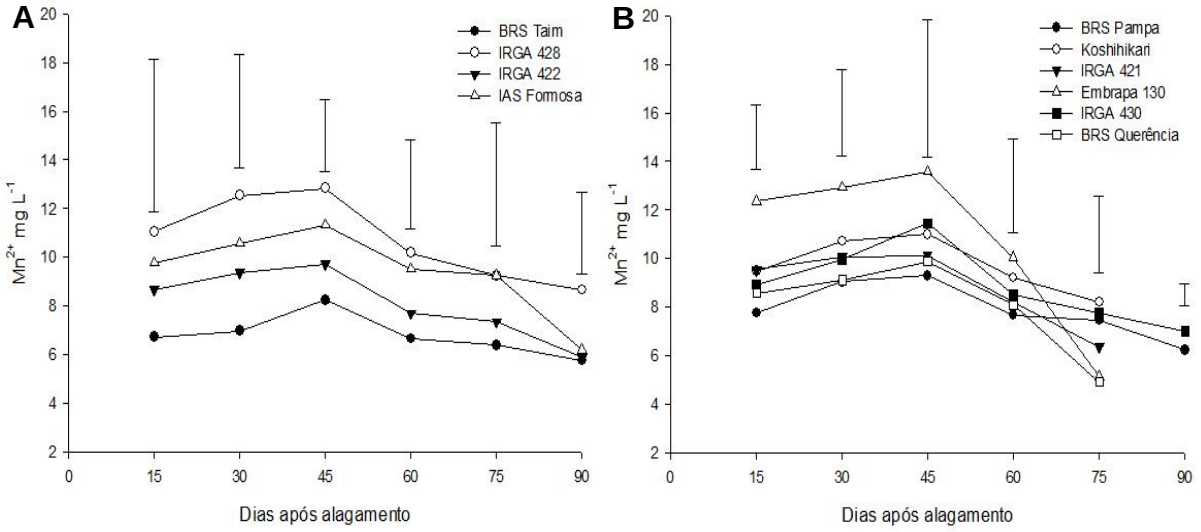
O oxigênio liberado das raízes de plantas de arroz na zona da rizosfera cria um ambiente oxidante, isso é essencial para que o ferro passe da sua forma mais reduzida Fe^{2+} para sua forma mais oxidada Fe^{3+}, o que leva a diminuição da concentração da forma mais reduzida na solução do solo (LAI et al., 2018). Assim, quanto maior for a capacidade do genótipo em liberar e difundir O_2 na rizosfera maiores serão as regiões onde o ferro será oxidado. Isto pode explicar as diferenças entre as concentrações de Fe^{2+} na solução do solo, como também, as diferenças nas emissões de CH_4 nessas cultivares, com exceção da cultivar IRGA 421, onde o comportamento das concentrações do Fe^{2+} está mais atrelado a sua resistência a toxidez por ferro. Este fenômeno é conhecido como mecanismo de exclusão do ferro descrito por YOSHIDA (1981). Neste mecanismo, a fração de Fe^{2+} que atinge as raízes via fluxo de massa permanece oxidada na rizosfera e não é absorvida.

Embora sejam as características do solo que determinam a intensidade das modificações na solução, a presença de plantas de arroz também determina as alterações no processo, quer pela absorção dos nutrientes, quer por modificações na rizosfera, principalmente devido ao fluxo de oxigênio nos aerênquimas e a precipitação do ferro nas raízes. Vários trabalhos na literatura já constataram a diferença nas concentrações de Fe^{2+} em solução quando cultivadas ou não plantas de arroz SOUSA et al. (2002); COPETTI (2014), observaram concentrações maiores de Fe^{2+} em solução quando não cultivadas plantas de arroz. Avaliando as diferentes perdas de oxigênio via raiz em genótipos de arroz irrigado, WU et al. (2015) constataram que os genótipos modernos apresentaram taxas maiores de liberação de oxigênio que os genótipos tradicionais, assim como a redução na biodisponibilidade de metais no solo e um maior grau de formação de placa de ferro sobre as raízes das plantas de arroz.

As concentrações de Mn^{2+} em solução demostraram um comportamento semelhante as concentrações de Fe^{2+}, com picos de concentração em todos os tratamentos aos 45 dias após alagamento e diminuição nos teores após esse pico (Figura 7). O aumento na concentração desse elemento deve-se a redução dos

óxidos mangânicos e a posterior diminuição dessas concentrações deve-se ao aumento do pH que diminui a solubilidade desse mineral (PONNAMPERUMA, 1972; SOUSA et al., 2002).

Figura 7 - Teores de Mn^{2+} da solução do solo em função do alagamento do solo durante o ciclo da cultura do arroz irrigado em casa de vegetação. (A) cultivares de ciclo médio, (B) cultivares de ciclo precoce. As barras verticais indicam a diferença mínima significativa entre as médias dos tratamentos pelo teste de Tukey ($p<0,05$) a cada coleta da solução.



A variação nas concentrações de Mn^{2+} foram de 4,90 mg L^{-1} a 13,57 mg L^{-1} no decorrer do experimento, onde foram mais semelhantes entre os tratamentos quando divididos em cultivares de ciclo médio e precoce. Esta menor variação de valores é comum, não sendo possível relacionar essas concentrações com as diferentes emissões de CH_4 obtidas entre as cultivares, diferentemente dos teores de Fe^{2+}. Em estudos anteriores realizados em solos orizícolas do Rio Grande do Sul é possível observar que não houve variações amplas nas concentrações de Mn^{2+} com o decorrer do alagamento, mesmo em solos com diferentes materiais de origem (GONÇALVES et al., 2008; GONÇALVES et al., 2011; SILVA et al., 2011).

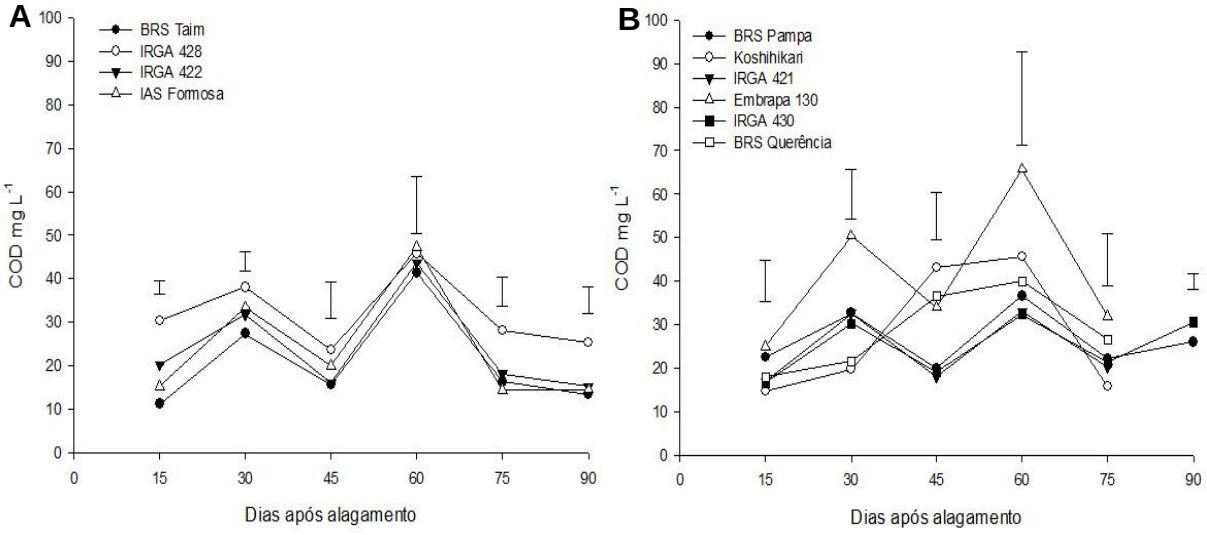
A diminuição dos valores de Fe^{2+} e Mn^{2+} coincidem com o maior pico de emissão de CH_4 60 dias após alagamento (Figura 3), isto indica que a emissão mais pronunciada de CH_4 ocorreu após a redução sequencial de Fe^{2+} e Mn^{2+}. Após estes elementos atuarem como aceptores de elétrons no processo de redução, os compostos orgânicos passaram a ser utilizados por bactérias metanogênicas, havendo a intensificação da produção de CH_4 em todos os tratamentos. Esta

diminuição nos valores de Fe^{2+}, próximo ao final do ciclo, se dá pelo crescimento das raízes das cultivares de arroz, o que proporciona mais oxigenação proveniente destas raízes, além do aumento nos valores de pH que contribuem para a precipitação do ferro. O desenvolvimento das raízes adventícias, onde a maioria do aerênquima lisígeno é formado, aerênquima esse principal fornecedor de O_2 às raízes, ocorre desde o perfilhamento com um pico máximo de crescimento no estádio de diferenciação da panícula até à floração (THOMSON et al., 1990; JUSTIN; ARMSTRONG, 1991; HOLZSCHUH et al., 2014).

As concentrações de COD na solução do solo, no decorrer do experimento, foram bem associadas com a emissão de CH_4, ocorrendo dois picos de concentração de COD em todos os tratamentos (Figura 8). Porém, não foi possível observar essa mesma associação com o COT exsudado das raízes das cultivares no período de florescimento pleno. As concentrações de COD obtiveram um primeiro pico menos pronunciado aos 30 dias após alagamento e um segundo pico um pouco mais relevante aos 60 dias após alagamento. Os valores nas concentrações de COD variaram de 11,84 mg L^{-1} a 65,79 mg L^{-1}.

Entre os tratamentos com cultivares de ciclo médio, as concentrações de COD foram bem semelhantes e mais diferenciadas nos tratamentos com cultivares de ciclo precoce (Figura 8). Apesar da semelhança, a cultivar IAS Formosa se destacou entre as cultivares de ciclo médio, com uma concentração de COD de 47,28 mg L^{-1} aos 60 dias após alagamento. Este valor na concentração de COD tem relação com a emissão de CH_4 que, no caso desta cultivar, foi o terceiro maior pico de CH_4 registrado aos 60 dias (Figura 3 B), como também apresentou um valor considerável de COT exsudado de suas raízes (Tabela 4). Porém, o mesmo não pode ser observado para a cultivar BRS Taim que, mesmo apresentando a maior emissão de CH_4 entre as cultivares de ciclo médio, apresentou apenas 41,38 mg L^{-1} de COD em solução aos 60 dias. A BRS Taim foi uma das cultivares que apresentou maior concentração de carbono orgânico nos exsudatos radiculares, mas, esse valor não se refletiu no COD em solução, apenas no valor de emissão de CH_4 aos 60 dias após alagamento.

Figura 8 - Teores de Carbono Orgânico Disponível (COD) da solução do solo em função do alagamento do solo durante o ciclo da cultura do arroz irrigado em casa de vegetação. (A) cultivares de ciclo médio, (B) cultivares de ciclo precoce. As barras verticais indicam a diferença mínima significativa entre as médias dos tratamentos pelo teste de Tukey (p<0,05) a cada coleta da solução.



Era esperado que todas as cultivares que emitiram mais CH_4 também proporcionassem mais COD em solução do solo para ser utilizado como matéria prima pelas bactérias metanogênicas a partir do carbono via exsudação radicular, porém, isso não foi possível ser observado, pois a emissão de CH_4 é algo mais complexo. A produção de CH_4 é um processo bioquímico muito complicado, impulsionado pela degradação microbiana de matéria orgânica sob condições anóxicas por bactérias metanogênicas e é o passo final em uma série de processos de redução sequenciais que são iniciados quando o solo é inundado (PATRICK; REDDY, 1978; PONNAMPERUMA, 1981; MITRA et al., 2012).

Outro aspecto que deve ser levado em consideração sobre a falta de associação entre emissão de CH_4, teores de COD e COT exsudado das raízes é a localização dos coletores de solução nos vasos do experimento. Além dos coletores serem de diâmetro e comprimento pequenos e estarem a 10 cm de profundidade do vaso, alguns ficaram possivelmente localizados um pouco longe da zona rizosférica mais ativa das plantas, ou seja, próximo a parede do vaso. Em estudo anterior, utilizando três cultivares de arroz irrigado e associando o COD com o COT exsudado das raízes e a emissão de CH_4, LU et al. (2000) utilizaram dois coletores de solução do solo, um na zona rizosférica das raízes das cultivares e outro próximo a parede

do vaso (zona não-rizosférica), onde observaram falta de associação entre o COD e o COT na solução proveniente do coletor fora da zona rizosférica.

Entre as cultivares de ciclo precoce, a Embrapa 130 e a Koshihikari apresentaram resultados mais elevados nas concentrações de COD, com valores de 65,78 mg L^{-1} e 45,58 mg L^{-1}, respectivamente, o que está de acordo com as emissões de CH_4 nessas cultivares, porém, houve uma inversão com a cultivar Koshihikari, apresentando um teor menor de COD em relação a Embrapa 130. As demais cultivares de ciclo precoce obtiveram comportamento nas concentrações de COD semelhantes as emissões de CH_4, reforçando a teoria de que quanto mais carbono orgânico dissolvido estiver disponível na solução do solo maior será a emissão de CH_4.

Analisando a emissão de CH_4 em campos de arroz no nordeste do Japão, CAMARGO et al. (2018) também encontrou maiores concentrações de COD em solução do solo por volta de 60 dias após o alagamento do solo, fato que os autores atribuíram a disponibilidade de carbono que ocorre neste período com o aumento da exsudação radicular nas plantas de arroz, por ocasião da diferenciação da panícula e florescimento pleno. A decomposição de carbono orgânico em arrozal inundado pode ser dividida em duas etapas: o carbono orgânico proveniente do próprio solo ou incorporado, como também de origem dos exsudatos radiculares que são inicialmente convertidos a carbono orgânico solúvel em água ou dissolvido (COD), posteriormente convertidos a CO_2 e CH_4, que ficam aprisionados no solo e depois são lançados para atmosfera via planta ou por difusão através da lâmina de água, ocorrendo formação de bolhas de gás que escapam para a atmosfera (CHENG; KOBAYASHI, 2008).

Outros fatores que podem contribuir para a menor ou maior concentração de COD em solução é que, a partir do desenvolvimento reprodutivo, as folhas mortas caem e formam uma liteira sobre o solo, os perfilhos que não produziram panícula e as raízes senescentes e suas escamações, e/ou a morte das plantas de arroz em adição aos exsudatos radiculares, passam a ter significativa participação no fornecimento de carbono solúvel, aumentando os valores de COD em solução. A decomposição anaeróbia desses materiais reduz o potencial redox e é fonte de C para a metanogênese em solos inundados, aumentando a produção de CH_4 (CAI et al., 1997; CHIDTHAISONG; WATANABE, 1997; BAYER et al., 2014).

7.3.4 Aspectos agronômicos das cultivares de arroz irrigado

Quanto aos aspectos agronômicos, apenas para o parâmetro número de panículas não ocorreram diferenças significativas. No parâmetro matéria seca da parte aérea a cultivar BRS Pampa apresentou o maior valor, seguida das cultivares BRS Taim e IRGA 428, o que está atrelado as maiores exsudações de carbono orgânico total obtidas por estas cultivares (Tabela 5). Já a cultivar Embrapa 130 apresentou o menor valor para matéria seca da parte aérea, também apresentando associação entre este parâmetro e o COT exsudado das raízes, como foi possível observar na (figura 2), referente ao experimento da quantificação do COT nos exsudatos, existe uma correlação alta entre esses dois parâmetros.

Tabela 5 - Valores médios (n=30) obtidos para as características agronômicas, avaliados em dez cultivares de arroz irrigado, sob condições de casa de vegetação.

Tratamentos	Número de panículas	Matéria seca da parte aérea	Produtividade
	Unidade	.....g vaso^{-1}.....	
BRS Taim	30 a	66,50 b	53,17 a
BRS Pampa	29 a	69,22 a	57,74 a
IRGA 428	29 a	65,21 b	43,65 b
Koshihikari	34 a	56,85 d	55,83 a
IRGA 421	29 a	53,56 e	34,10 c
Embrapa 130	36 a	46,23 f	44,56 b
IRGA 422	30 a	60,58 c	51,53 a
IAS Formosa	27 a	59,24 c	42,75 b
IRGA 430	26 a	61,44 c	51,73 a
BRS Querência	30 a	63,13 c	44,53 b
Média geral	30,33	60,20	47,98
CV (%)	12,00	2,94	7,94

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott ($p<0,05$).

As produtividades em g vaso^{-1} foram maiores nas cultivares BRS Pampa, Koshihikari, BRS Taim, IRGA 430 e IRGA 422, respectivamente, e menor na cultivar IRGA 421, enquanto as demais cultivares apresentaram resultados intermediários para produtividade em g vaso^{-1} (Tabela 5). Apesar da BRS Pampa apresentar um valor expressivo de COT e de matéria seca da parte aérea, esses resultados não se refletiram no efluxo acumulado de CH_4 (Figura 4), além da mesma apresentar boa produtividade. Situações semelhantes foram observadas nas cultivares IRGA 422 e IRGA 430 que apresentaram boa produtividade com efluxo baixo de CH_4.

De acordo com a SOSBAI (2016), a BRS Pampa é uma cultivar do tipo “moderno” de ciclo precoce e com ampla adaptação no Rio Grande do Sul,

possuindo excelente produtividade, boa tolerância ao acamamento e excelentes atributos de cocção segundo a indústria gaúcha, já as cultivares IRGA 422 e IRGA 430 apresentam um alto potencial produtividade e boa qualidade de grãos a campo, assim como boa adaptabilidade em todas as regiões orizícolas do Rio Grande do Sul.

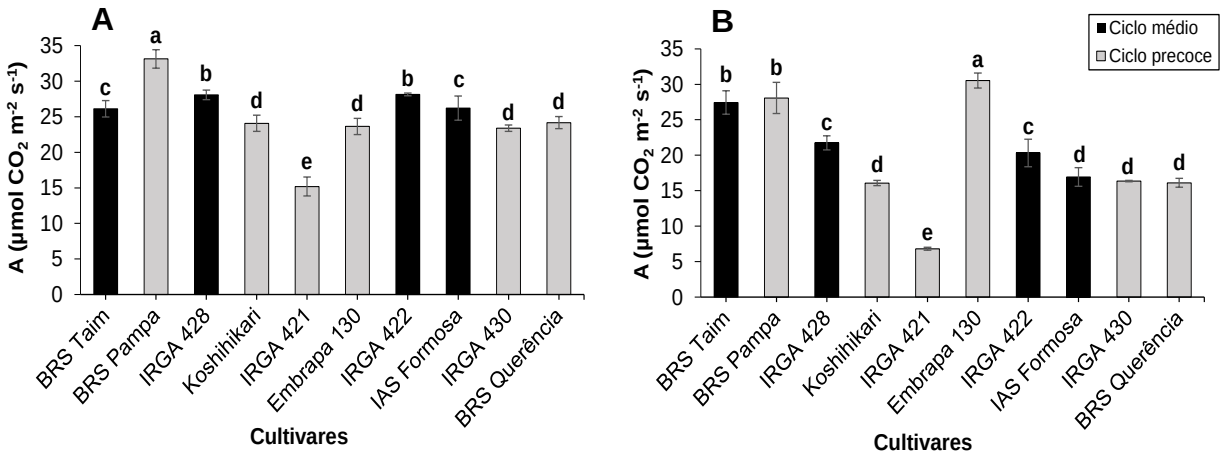
Apesar desses resultados de produtividade serem oriundos de cultivo em casa de vegetação, onde no campo possa existir mais diferença por causa da questão ambiental, as cultivares que apresentaram maior produtividade são as que, geralmente, apresentam boa produtividade a campo. Assim, indicações de cultivares com maior produtividade e menor efluxo de CH_4, podem ser ferramentas eficazes para diminuir os efeitos negativos do cultivo do arroz ao meio ambiente sem diminuir a oferta do produto que possui uma demanda mundial alta, principalmente, se esta cultivar possuir ciclo curto em função do menor tempo que ficam no campo. No entanto, essas indicações de cultivares são mais complexas, pois é necessário levar em consideração características de nichos de mercado e da região orizícola, como tipo de solo e aspectos climáticos. Para exemplificar, a cultivar Koshihikari foi a segunda cultivar com a maior produtividade, o que normalmente não é observado a campo, e a que obteve o maior valor de emissão de CH_4. Esta cultivar é um tipo especial de arroz com teor baixo de amilose no grão, caracterizada como de alta qualidade para uso na culinária oriental, além de boa adaptação a diferentes ambientes e tolerância ao frio durante a fase de iniciação da panícula (KOBAYASHI et al., 2018).

Diferentemente da cultivar IRGA 421, que não obteve uma boa produtividade, no entanto, traz algumas vantagens quando cultivada. Além de não possuir um valor expressivo de COT nos seus exsudatos radiculares e, como consequência, ser uma cultivar de baixa emissão de CH_4, outra vantagem apresentada por esta cultivar é a resistência a toxidez por ferro, podendo ser utilizada em áreas com grande probabilidade de ocorrência dessa toxidez, sendo também uma ótima opção para controle do arroz vermelho (STRECK et al., 2006; STRECK et al., 2008; WALTER, 2010).

7.3.5 Aspectos fisiológicos das cultivares de arroz irrigado

As taxas de assimilação líquida de CO_2 – fotossíntese (A) diferiram estatisticamente entre as cultivares de arroz irrigado pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro nas duas leituras realizadas (Figura 9).

Figura 9 - Taxas de assimilação liquida de CO_2 – fotossíntese (A), avaliadas em dez cultivares de arroz irrigado. (A) 1ª leitura-63 dias após alagamento do solo, (B) 2ª leitura-78 dias após alagamento do solo. Dados representam valores médios (n=60) ± desvio padrão. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott (p<0,05).

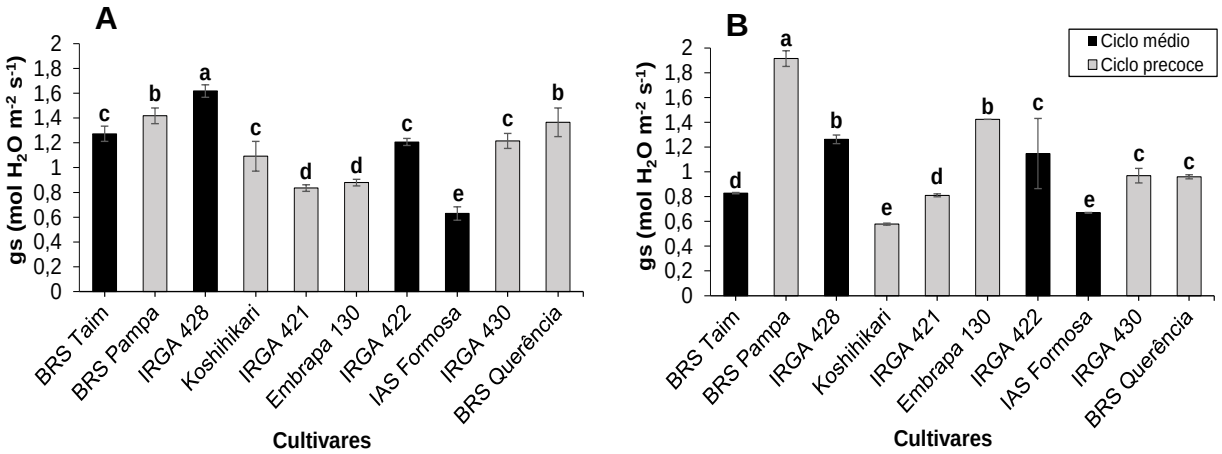


As cultivar BRS Pampa obtive o maior valor de A na 1ª leitura, seguida das cultivares IRGA 428 e IRGA 422, enquanto que a cultivar IRGA 421 apresentou o menor valor, ou seja, 33,13, 28,07, 28,14 e 15,19 µmol CO_2 m^{-2} s^{-1}, respectivamente. Na 2ª leitura a cultivar Embrapa 130 obteve o maior valor, seguida das cultivares BRS Taim e novamente a BRS Pampa com valores de 30,54, 27,43 e 28,08 µmol CO_2 m^{-2} s^{-1}, já a cultivar IRGA 421 permaneceu com o menor resultado, apresentando valor igual a 6,80 µmol CO_2 m^{-2} s^{-1} (Figura 9B). Estes resultados podem estar associados a emissão de CH_4 e ao COT dos exsudados radiculares em algumas cultivares, pois as cultivares BRS Taim, BRS Pampa e IRGA 428, que obtiveram as maiores A, foram as que apresentaram um maior conteúdo de COT exsudado das suas raízes (Tabela 4), assim como a IRGA 421, que apresentou a menor A e um dos menores conteúdos de COT exsudado das suas raízes. Para as cultivares BRS Taim e IRGA 421 a A e o conteúdo de COT exsudado foram refletidos nas emissões de CH_4 (Figuras 3 e 4).

Como as cultivares estavam com a mesma condição de luminosidade, disponibilidade hídrica e nutrição mineral, pode-se afirmar que essas diferenças obtidas estão realmente ligadas a fatores morfofisiológicos específicos de cada cultivar, que podem ajudar a explicar como esse parâmetro fisiológico vem interferir na taxa de emissão de CH_4 e no conteúdo de COT exsudado das raízes.

A condutância estomática (gs) avaliada nas dez cultivares de arroz irrigado também obteve diferença significativa quando aplicado o teste de Scott-knott a 5% de probabilidade de erro nas duas leituras realizadas (Figura 10).

Figura 10 - Condutâncias estomática (gs), avaliadas em dez cultivares de arroz irrigado. (A) 1ª leitura-63 dias após alagamento do solo, (B) 2ª leitura-78 dias após alagamento do solo. Dados representam valores médios (n=60) ± desvio padrão. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott (p<0,05).



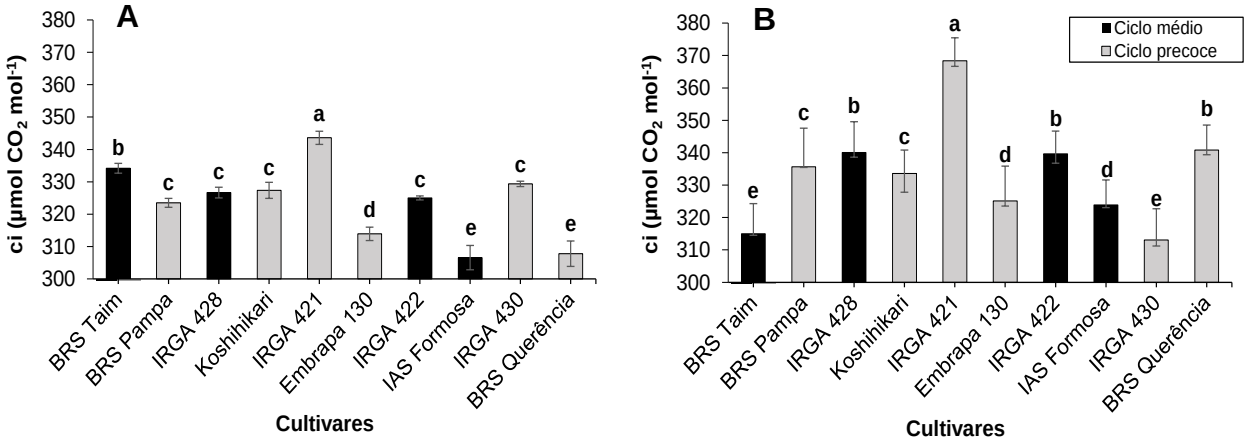
A maior gs foi observada na cultivar IRGA 428, seguida da cultivar BRS Pampa, referentes a 1ª leitura, com valores de 1,61, e 1,41 mol H_2O m^{-2} s^{-1}, já na 2ª leitura, a cultivar BRS Pampa apresentou novamente a maior gs, com valor de 1,91 mol H_2O m^{-2} s^{-1}, nesta ordem seguida da cultivar Embrapa 130, com valor igual a 1,42 mol H_2O m^{-2} s^{-1} (Figura 10). Os menores resultados de gs foram observados nas cultivares IAS Formosa e IRGA 421 em ambas as leituras, com valores de 0,63 e 0,67 mol H_2O m^{-2} s^{-1} para a 1ª leitura e 0,84 e 0,81 mol H_2O m^{-2} s^{-1} na 2ª leitura. Assim, como foram observados menores resultados de gs para a cultivar Embrapa 130 na 1ª leitura, com valor de 0,88 mol H_2O m^{-2} s^{-1} e para a cultivar Koshihikari na 2ª leitura, com valor igual a 0,58 mol H_2O m^{-2} s^{-1} (Figura 10).

Diferenças significativas de condutância estomática entre variedades de arroz mantidas sob condições hídricas não limitantes também são relatadas por OHSUMI et al. (2007); OHSUMI et al. (2008); LORENÇONI (2014). A condutância estomática está intimamente ligada a fotossíntese, em situações de disponibilidade hídrica abundante como no caso do presente experimento se torna vantajoso para o vegetal intercambiar a água por produtos da fotossíntese, isto é, vale a pena ter uma condutância estomática alta que reflete em uma maior taxa de absorção de CO_2 garantindo a fixação contínua deste durante a fotossíntese (TAIZ et al., 2017).

As cultivares BRS Pampa e IRGA 428 possuem grandes quantidades de COT exsudado de suas raízes e elevadas taxas fotossintéticas. Sabe-se que uma quantidade substancial do carbono fotossintetizado em cultivos anuais pode ser translocado para as raízes e exsudado. Dessa forma, existe uma provável associação entre esses três parâmetros. Da mesma maneira, a cultivar Embrapa 130 apresentou valor alto de gs na 2ª leitura, atrelado ao alto valor de A também nessa leitura.

Com relação a concentração de CO_2 intercelular (ci), houve diferença significativa entre as cultivares quando aplicado o teste de médias Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro nas duas leituras realizadas (Figura 11). De forma geral, as cultivares que apresentaram as maiores taxas de A e gs foram as que apresentaram menores ci, e as cultivares que apresentaram os maiores valores de ci foram as que apresentaram os menores valores para A e gs.

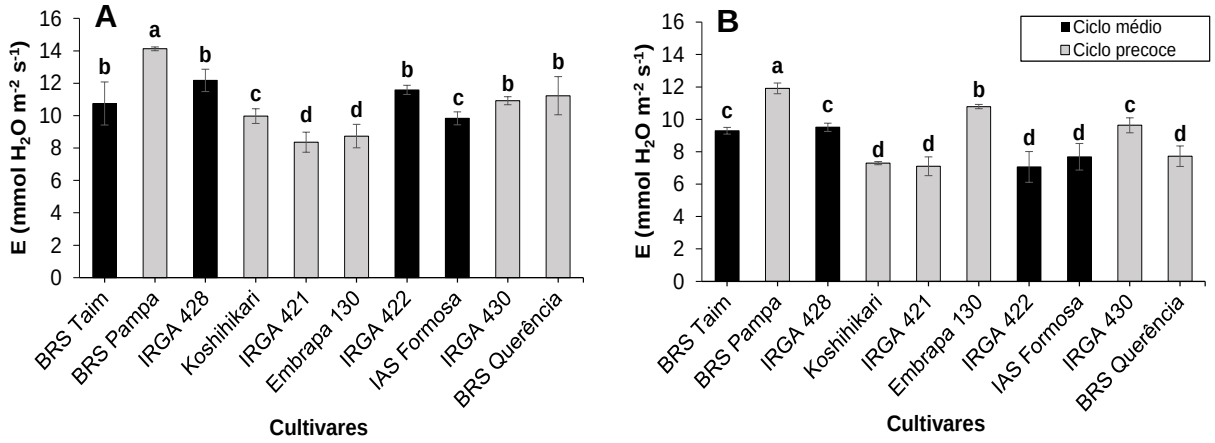
Figura 11 - Concentração de CO_2 intercelular (ci), avaliadas em dez cultivares de arroz irrigado. (A) 1ª leitura-63 dias após alagamento do solo, (B) 2ª leitura-78 dias após alagamento do solo. Dados representam valores médios (n=60) ± desvio padrão. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott (p<0,05).



A cultivar IRGA 421 obteve as maiores ci, com valores iguais a 343,60 e 368,39 µmol CO_2 mol^{-1}, respectivamente, em ambas as leituras. Com relação as cultivares IAS Formosa e BRS Querência, as mesmas registraram as menores ci na 1ª leitura (306,59 e 307,80 µmol CO_2 mol^{-1}), já na 2ª leitura, as cultivares BRS Taim, IRGA 430, apresentaram as concentrações mais baixas (314,98 e 313,08 µmol CO_2 mol^{-1}) (Figura 11). Essas diferenças fisiológicas entre as cultivares parecem evidenciar a existência de possíveis variações genotípicas quanto ao aproveitamento fotossintético do CO_2. Cultivares que apresentam menor ci com elevadas taxas de assimilação de CO_2, demostram um elevado aproveitamento fotossintético do CO_2, assim, uma boa parte do CO_2 assimilado é consumido para formação de produtos finais, tais como sacarose ou amido, e outra parte pode ser translocada para as raízes, reduzindo assim os valores de ci.

Diferenças significativas foram obtidas quando aplicado o teste de médias Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro nas duas leituras realizadas para variável taxas de transpiração (E). A cultivar BRS Pampa apresentou a maior taxa de transpiração em ambas as leituras, com valores de 14,13 e 11,91 mmol H_2O m^{-2} s^{-1}, enquanto que a IRGA 421 as menores taxas, com resultados iguais a 8,36 e 7,11 mmol H_2O m^{-2} s^{-1}. Na 1ª leitura também foi observado valor baixo de E para cultivar Embrapa 130, obtendo valor igual a 130 8,74 mmol H_2O m^{-2} s^{-1}, já na 2ª leitura, as cultivares Koshihikari, IRGA 422, IAS Formosa e BRS Querência apresentaram resultados menores, com valores iguais a 7,29, 7,06, 7,69 e 7,72 mmol H_2O m^{-2} s^{-1}, respectivamente (Figura 12).

Figura 12 - Taxas de transpiração (E), avaliadas em dez cultivares de arroz irrigado. (A) 1ª leitura-63 dias após alagamento do solo, (B) 2ª leitura-78 dias após alagamento do solo. Dados representam valores médios (n=60) ± desvio padrão. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott (p<0,05).



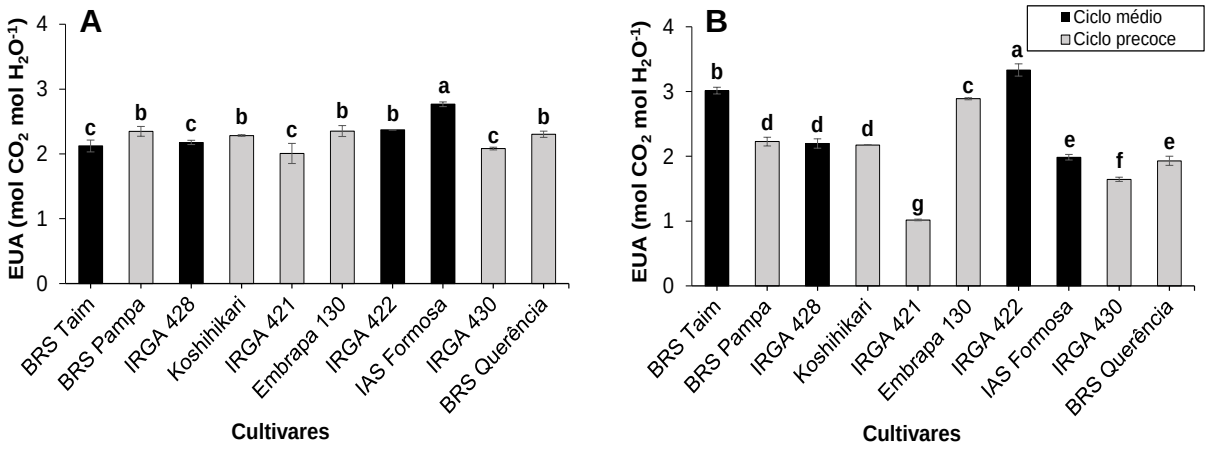
De maneira geral, os valores de E estão em concordância com os valores de gs (Figura 10). Tal comportamento evidência a efetividade da condutância estomática sobre o fluxo transpiratório. A maior E apresentada pela cultivar BRS Pampa indica que seus estômatos mantiveram-se mais abertos, o que é confirmado por suas elevadas taxas de condutância estomática (Figura 10). Já nas cultivares IRGA 421, Koshihikari, IRGA 430 e IAS Formosa, efeito inverso é observado, onde as mesmas mantiveram seus estômatos mais fechados, o que resultou em menores E e gs.

A transpiração vegetal e a evaporação são regidas pelos mesmos princípios físicos. A taxa de absorção de água é igual à taxa de transpiração em uma situação de equilíbrio no movimento da água através do sistema solo-planta-atmosfera, que deve ser visto como um *continuum*. Todavia, a transpiração vegetal, além de ser influenciada por fatores ambientais ou externos como a evaporação, também sofre influência de fatores internos condicionados pelas características morfológicas e fisiológicas das plantas (HIRASAWA, 1995; PUPATTO, 2003)

Para absorver CO_2, a planta, inexoravelmente, perde água e, quando diminui esta perda, restringe a entrada de CO_2. Esta interdependência foi reconhecida há muito tempo e é expressada numericamente pela razão global entre assimilação e o consumo de água, esta relação entre fotossíntese e transpiração resulta na eficiência do uso da água (EUA) (LARCHER, 2003; PUPATTO, 2003; TONELLO, 2010).

Quando analisados os dados para EUA os valores também obtiveram uma diferença significativa quando aplicado o teste de médias Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro em ambas as leituras. A cultivar IAS Formosa obteve a maior EUA na 1ª leitura (2,77 mols CO_2 mol H_2O^{-1}) e as cultivares BRS Taim, IRGA 428, IRGA 421 e IRGA 430 os menores valores (2,12; 2,18; 2,01; 2,08 mols CO_2 mol H_2O^{-1}), já as demais cultivares obtiveram valores intermediários. Na 2ª leitura, a cultivar IRGA 422 obteve a maior EUA (3,33 mols CO_2 mol H_2O^{-1}) seguida da cultivar BRS Taim (3,01 mol CO_2 mol H_2O^{-1}), já as cultivares IRGA 421 seguida da cultivar IRGA 430 seguiram obtendo resultados baixos para essa variável, com valores iguais a 1,02 e 1,64 mol CO_2 mol H_2O^{-1} (Figura 13). Variações genotípicas da eficiência de uso da água em cultivares de arroz sob condições hídricas ótimas foram descritas por DINGKUHN et al. (1991); PENG et al. (1998) e IMPA et al. (2005).

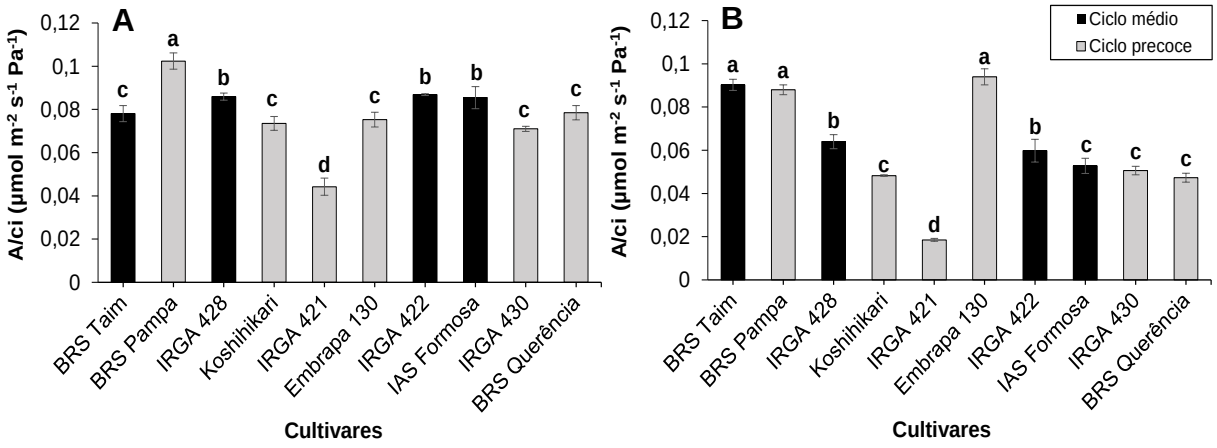
Figura 13 - Eficiências do uso da água (EUA), avaliadas em dez cultivares de arroz irrigado. (A) 1ª leitura-63 dias após alagamento do solo, (B) 2ª leitura-78 dias após alagamento do solo. Dados representam valores médios (n=60) ± desvio padrão. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott (p<0,05).



A redução na E resulta muitas vezes no aumento da EUA, pois menor quantidade de água é evapotranspirada para a produção de certa quantidade de matéria seca e até mesmo para ganhos em produtividade (SILVA; SILVA, 2007). Isto pode ser observado em algumas cultivares, por exemplo, BRS Taim, IRGA 422, Embrapa 130, Koshihikari, IRGA 430 e IAS Formosa (Figuras 12 e 13). Estas cultivares conseguiram reduzir sua transpiração, aumentando desta forma a eficiência do uso da água, o que ficou refletido em suas produtividades alcançadas (Tabela 5). Tal comportamento também foi observado por AGNIHOTRI et al. (2003) que analisou características de trocas gasosas de 30 variedades crioulas de arroz na região do Himalaia central indiano, concluindo que as maiores EUA's foram regularmente associadas às variedades com melhores produtividades.

Outra variável que pode influenciar nos ganhos de produtividade é a eficiência instantânea de carboxilação pela Rubisco (A/ci). Para esta variável, houve diferença significativa quando aplicado o teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro em ambas as leituras realizadas para todas as cultivares avaliadas (Figura 14).

Figura 14 - Eficiências instantâneas de carboxilação pela Rubisco (A/ci), avaliadas em dez cultivares de arroz irrigado. (A) 1ª leitura-63 dias após alagamento do solo, (B) 2ª leitura-78 dias após alagamento do solo. Dados representam valores médios (n=60) ± desvio padrão. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott (p<0,05).



Na 1ª leitura, a cultivar BRS Pampa seguida das cultivares IRGA 428, IRGA 422 e IAS Formosa apresentaram os maiores valores de A/ci, de modo que 0,10 µmol m^{-2} s^{-1} Pa^{-1} foi o resultado apresentado pela cultivar BRS Pampa e 0,08 µmol m^{-2} s^{-1} Pa^{-1} para as demais cultivares, enquanto que a IRGA 421 apresentou o menor resultado, com valor igual a 0,04 µmol m^{-2} s^{-1} Pa^{-1}. Já na 2ª leitura, a cultivar BRS Pampa seguiu apresentando um dos maiores valores para essa variável, com resultado igual a 0,08 µmol m^{-2} s^{-1} Pa^{-1}, acompanhada das cultivares BRS Taim e Embrapa 130, ambas com 0,09 µmol m^{-2} s^{-1} Pa^{-1}, e a IRGA 421 seguiu com o menor valor obtido, apresentando resultado igual a 0,01 µmol m^{-2} s^{-1} Pa^{-1} (Figura 14).

Variações na eficiência instantânea de carboxilação pela Rubisco, em diferentes cultivares de arroz mantidos sob condições hídricas não limitantes, têm sido relatadas por ADACHI et al. (2011); TAYLARAM et al. (2011); GU et al. (2012). Esta dinâmica de respostas na A/ci pode variar em função das condições ambientais, espécie vegetal e idade da folha (LAWLOR 2002). No entanto, no presente estudo, é provável que a diferença entre essas cultivares estejam ligadas mesmo as características genotípicas.

A A/ci possui uma estreita relação com a concentração intracelular de CO_2 e com a taxa de assimilação de dióxido de carbono (MACHADO et al., 2005). O comportamento da A/ci, no presente estudo, está em conformidade com os valores

observados na taxa de assimilação líquida de CO_2, onde as cultivares que apresentaram as maiores A também apresentaram as maiores A/ci (Figuras 9 e 14). Com relação a ci, é possível observar que a cultivar IRGA 421 obteve o maior valor, porém, sua eficiência instantânea de carboxilação foi baixíssima (Figuras 11 e 14).

Valores elevados de concentração interna de CO_2, associados a baixas taxas de assimilação liquida de CO_2, indicam um decréscimo na eficiência instantânea de carboxilação, ocorrido em função da reduzida disponibilidade de ATP, NADPH e de substrato para a Rubisco, resultando na queda da atividade dessa enzima essencial no processo de fixação de CO_2 (MACHADO et al., 1999; SILVA, et al., 2015). Isto pode explicar a baixa eficiência da Rubisco, obtida por essa cultivar que influenciou tanto no conteúdo de carbono orgânico total exsudado como na produtividade da mesma (Tabelas 4 e 5).

7.3.6 Correlações entre emissão de metano, exsudação radicular de COT, aspectos agronômicos e aspectos fisiológicos das cultivares de arroz irrigado

Com o intuito de analisar como a interação dos caracteres agronômicos das diferentes cultivares pode influenciar, de forma direta ou indireta, na emissão de CH_4 e no conteúdo de COT exsudado das raízes, o desdobramento das correlações genotípicas e fenotípicas se fez necessário, pois a correlação alta entre dois caracteres pode ser resultado do efeito indireto de um terceiro caráter ou de um grupo de caracteres. Do total de 10 correlações fenotípicas, apenas a correlação entre a variável agronômica MSPA e o COT de exsudatos radiculares foi positivamente significativa pelo teste t a 5% de probabilidade de erro (Tabela 6), considerada muito forte de acordo com a classificação de SHIMAKURA; RIBEIRO JUNIOR (2012), onde constatou-se, mais uma vez, que a matéria seca da parte aérea impulsiona a quantidade de COT que é exsudado das raízes das cultivares de arroz irrigado. No que se refere a emissão acumulada de CH_4, não foi possível observar nenhuma correlação significativa entre essa variável com as variáveis agronômicas e o COT exsudado das raízes. As correlações foram, em sua maioria, negativas e de baixa magnitude (Tabela 6).

Tabela 6 - Correlações fenotípicas (rf) e genotípicas (rg) entre três variáveis agronômicas, emissão acumulada de CH_4 e COT exsudado das raízes, avaliadas em dez cultivares de arroz irrigado, sob condições de casa de vegetação.

Variáveis	R	PAN	PRODT	ACUM	COT
MSPA	rf	-0,96**	0,53	-0,55	0,90*
	rg	-0,95^{++}	0,58	-0,52	0,91^{++}
PAN	rf		0,36	0,41	-0,83
	rg		-0,34	0,53	0,87^{+}
PRODT	rf			-0,14	0,34
	rg			-0,24	0,43
ACUM	rf				-0,79
	rg				-0,78

ACUMU = emissão acumulada de CH_4; MSPA = matéria seca da parte aérea; PAN = número de panículas; PRODT = produtividade; COT = carbono orgânico total exsudado das raízes.
****** e *: significativo a 1 e 5% de probabilidade pelo teste t. $^{++}$ e $^{+}$: significativo a 1 e 5% pelo método de *Bootstrap* com 5.000 simulações.

Quanto as correlações genotípicas, as correlações entre a MSPA e COT, e entre PAN e COT, apresentaram-se positivas pelo método de *Bootstrap* a 1 e a 5% de significância, respectivamente (tabela 6). Correlações estas classificadas como muito forte e forte seguindo os critérios de SHIMAKURA; RIBEIRO JUNIOR, 2012. Esta correlação obtida entre PAN e COT, pode ser explicada pelo fato de que cada panícula se refere ao número de perfilhos ativos na planta, o que contribui para o aumento da matéria seca da parte aérea, resultando de forma indireta no aumento do COT a ser exsudado das raízes. Um maior perfilhamento na planta de arroz aumenta o conteúdo de matéria seca da parte aérea, onde são encontrados na literatura correlações positivas entre COT exsudado de raízes, perfilhamento e matéria seca da parte aérea (AULAKH et al., 2002; GOGOI et al., 2005; DAS; BARUAH, 2008).

Entretanto, as correlações genotípicas por si só não são capazes de nos dar dados suficientes. As correlações fenotípicas, as quais abrangem as genotípicas e ambientais, nos são capazes de fornecer informações mais claras, por isso correlações fenotípicas são mais eficientes (RIOS et al., 2012). Deste modo, as correlações fenotipicas foram utilizadas para a análise dos efeitos diretos e indiretos dos caracteres agronômicos, e do COT exsudado das raízes (caracteres secundários), variáveis explicativas, sobre a varaiável principal (caractere primário), emissão acumulada de CH_4, através da análise de trilha dos dados *(path analysis)*. Não foram observados efeitos de muticolinariedade quando utilizadas estas variaveis, pois não houve fatores de inflação da variância (FIVs) maiores ou igual a 0 e o número de condição (NC) foi <100 (28,34), classificado como de

multicolinearidade fraca, conforme os critérios sugeridos por (MONTGOMERY;PECK, 1981), no entanto, os valores de coeficiente de determinação foram demasiadamente baixos (0,19) com relação aos valores dos efeitos residuais (0,89).

Diante deste fato, foi decidido não apresentar a tabela desta análise, em virtude da predominância de resultados com baixa magnitude nos caracteres secundários, nos coeficientes de determinação e nos efeitos direto e/ou indiretos. Isto evidencia a necessidade da inclusão de novos caracteres no diagrama causal, ou seja, os caracteres agronômicos avaliados neste estudo não são suficientes para explicar a complexidade entre emissão de CH_4 e exsudação radicular de COT medidas nestas dez cultivares de arroz irrigado.

Para uma melhor explicação sobre quais variáveis fisiológicas podem influenciar de forma direta ou indireta na emissão de CH_4 e no conteúdo de COT exsudado das raízes, o desdobramento das correlações genotípicas e fenotípicas se fez necessário. Os aspectos fisiológicos, a emissão de CH_4 e o COT exsudado das raízes nas duas leituras, em geral, apresentaram correlações genotípicas que, quando não foram semelhantes as fenotípicas, foram mais elevadas e de igual sinal, indicando que não houve influência do ambiente na expressão dos caracteres e efetiva precisão experimental. Isto nos dá uma garantia de que as correlações e diferenças apresentadas entre as cultivares, são expressões ligadas a fatores morfofisiológicos específicos de cada cultivar (Tabela 7).

Tabela 7 - Correlações fenotípicas (rf) e genotípicas (rg) entre seis variáveis fisiológicas, emissão pontual de CH_4 e COT exsudado das raízes, avaliadas em dez cultivares de arroz irrigado, sob condições de casa de vegetação, aos 63 dias após o alagamento do solo (1ª leitura) e aos 78 dias após o alagamento do solo (2ª leitura).

Variáveis	R	gs	ci	E	EUA	A/ci	$CH_4^{(1)}$	COT
A	rf	0,53	-0,61	0,88**	0,46	0,98**	-0,37	0,53
	rg	0,54	-0,60	$0,90^{++}$	0,46	$0,98^{++}$	-0,38	0,55
gs	rf		0,27	0,85**	-0,48	0,40	-0,82*	0,87**
	rg		0,27	$0,84^{++}$	-0,46	0,42	$-0,83^{++}$	$0,88^{++}$
ci	rf			-0,19	-0,96**	-0,72*	-0,41	0,28
	rg			-0,22	$-0,96^{++}$	0,71*	-0,42	0,28
E	rf				0,01	0,80*	-0,71*	0,79*
	rg				0,05	$0,83^{++}$	-0,70	$0,80^{+}$
EUA	rf					0,59	0,53	-0,41
	rg					0,59	0,53	-0,40
A/ci	rf						-0,24	0,41
	rg						-0,26	0,43
CH_4	rf							-0,88**
	rg							$-0,89^{++}$
78 dias após o alagamento do solo (2ª leitura)								
Variáveis	R	gs	ci	E	EUA	A/ci	$CH_4^{(2)}$	COT
A	rf	0,63*	-0,97**	0,83**	0,83**	0,99**	-0,01	0,68
	rg	0,62	$-0,97^{++}$	$0,83^{++}$	$0,83^{+}$	$0,99^{++}$	0,01	$0,68^{+}$
gs	rf		-0,47	0,90**	0,21	0,62	-0,72*	0,38
	rg		-0,48	$0,91^{++}$	0,20	0,61	$-0,72^{+}$	0,38
ci	rf			-0,75*	-0,86**	-0,97**	-0,14	-0,71*
	rg			$-0,75^{+}$	$-0,86^{+}$	$-0,98^{+}$	-0,14	$-0,71^{+}$
E	rf				0,41	0,83**	-0,40	0,67*
	rg				0,42	$0,84^{++}$	-0,41	$0,67^{+}$
EUA	rf					0,83*	0,28	0,41
	rg					$0,83^{+}$	0,32	0,41
A/ci	rf						0,01	0,70*
	rg						0,28	$0,70^{+}$
CH_4	rf							0,19
	rg							0,21

$CH_4^{(1)}$ = emissão pontual de metano aos 63 dias após alagamento; $CH_4^{(2)}$ = emissão pontual de metano aos 78 dias após alagamento; A = taxa de assimilação líquida de CO_2; gs = condutância estomática; ci = concentração de CO_2 intercelular; E = taxa de transpiração; EUA = eficiência do uso da água; A/ci = eficiência instantânea de carboxilação pela Rubisco; COT = carbono orgânico total exsudado das raízes.

****** e *: significativo a 1 e 5% de probabilidade pelo teste t. $^{++}$ e $^{+}$: significativo a 1 e 5% pelo método de *Bootstrap* com 5.000 simulações.

Na interpretação de correlações três aspectos devem ser considerados: a magnitude, a direção e a significância. Estimativas de coeficiente de correlação positivas indicam a tendência de uma variável aumentar quando a outra aumenta, já as correlações negativas indicam tendência de uma variável aumentar enquanto a outra diminui (NOGUEIRA et al., 2012). Correlações positivas entre taxa de assimilação e condutância estomática, sob condições hídricas ótimas, têm sido observadas em arroz por TURNER, et al. (1986); KONDO et al. (2000); LOURENÇONI (2014). No presente trabalho foi possível fazer esta observação nos dados obtidos com a 2ª leitura dos aspectos fisiológicos, com uma correlação

fenotípica significativa classificada como moderada segundo SHIMAKURA; RIBEIRO JUNIOR, (2012) (Tabela 7).

A taxa de assimilação liquida de CO_2 também obteve correlações positivas com E e A/ci classificadas como forte e muito forte em ambas as leituras, e EUA e COT caracterizadas como forte e moderada, respectivamente, na 2ª leitura (Tabela 7). Estas correlações só reforçam a ideia de que, realmente, altas taxas fotossintéticas estão relacionadas ao COT exsudado das raízes de cultivares de arroz. Em cultivos de espécies anuais, 30 a 60% do carbono fixado fotossinteticamente pela planta é translocado para as raízes e uma proporção considerável deste carbono (até 70%) pode ser libertado para a rizosfera por meio de rizodeposição (LILJEROTH et al., 1994; CHENG et al., 2003; YIQI; ZHOU, 2010).

As correlações positivas forte e muito forte entre a taxa de assimilação de CO_2 e a taxa de transpiração, nas duas leituras, indicam a efetividade do mecanismo de ajustamento estomático sobre as taxas de transpiração e assimilação de CO_2, que são refletidas na EUA. Esta variável obteve correlações positivas com A e A/ci na 2ª leitura (Tabela 7). Para o arroz, que é uma planta C_3, são perdidas cerca de 400 moléculas de água para cada molécula de carbono fixada pela fotossíntese, resultando em uma EUA de valores elevados para essa espécie. Este alto valor de EUA nas plantas C_3 é resultante de: O gradiente de concentração que governa a perda de água ser cerca de 50 vezes maior que aquele que regula o influxo de CO_2; O CO_2 difunde-se na proporção de 1,6 vezes mais lentamente pelo ar que a água; O CO_2 precisa atravessar a membrana plasmática, o citoplasma e o envoltório do cloroplasto antes de ser assimilado no cloroplasto (TAIZ et al., 2017).

Observa-se nas duas leituras, que gs e E apresentaram correlações positivas forte e muito forte (Tabela 7). Isto explica porque as cultivares com maior transpiração foram as que obtiveram maiores condutâncias estomáticas, já as que apresentaram menores transpirações, obtiveram os menores valores para condutância estomática (Figuras 10 e 12) influenciando, desta forma, nos conteúdos de COT exsudado das raízes das cultivares, isto é, maior transpiração, maior condutância estomática, maior entrada de CO_2, mais carbono translocado para raiz e maior conteúdo de COT exsudado, concluindo que as cultivares com maiores E e gs apresentaram os maiores conteúdos de COT (Tabela 4). Por consequência, observou-se correlações positivas forte e moderada entre E e COT na 1ª e 2ª leitura

das variáveis fisiológicas, respectivamente, e correlação forte entre gs e COT na 1ª leitura (Tabela 7).

Através dos dados apresentados, foi possível constatar uma variabilidade genética entre as cultivares de arroz no aproveitamento de CO_2 fotossintético. Tal comportamento é evidenciado ao analisarmos as correlações positivas muito fortes estabelecidas entre a A e A/ci em ambas as leituras, e as correlações negativas observadas entre A e ci (Tabela 7). O aumento em ci e diminuição em A/ci observado em algumas cultivares (Figuras 11 e 14), indicam que houve uma limitação estomática e do mesófilo na fotossíntese (RIEKERT VAN HEERDEN; KRÜGER, 2002; FILGUEIRAS; MENESES, 2015). A diminuição em A/ci indica a ocorrência de distúrbios metabólicos e o aumento de ci é uma evidência de que houve uma limitação não estomática no processo fotossintético (FARQUHAR; SHARKEY, 1982; FILGUEIRAS, 2015). Isto esclarece o porquê as cultivares com maior A foram as que obtiveram menores ci e, consequentemente, maiores A/ci. Esta efetividade de carboxilação pela Rubisco influencia no conteúdo de COT exsudado das raízes que apresentou correlação positiva forte com A/ci na 2ª leitura.
Com relação a emissão pontual de CH_4 nas duas leituras, as correlações foram prevalentemente negativas ou de baixa magnitude, apresentando correlações significativas negativas entre gs e CH_4 em ambas as leituras e entre CH_4 e COT na 1ª leitura, bem como, correlação fenotípica significativamente negativa entre E e CH_4 na 1ª leitura (Tabela 7). Portanto, nas tabelas de correlações fenotípicas e genotípicas com variáveis agronômicas e com variáveis fisiológicas, foi possível observar que estas variáveis proporcionaram uma melhor compreensão do conteúdo de COT exsudado das raízes das cultivares de arroz do que da emissão de CH_4, tanto pontual como acumulada.

O fornecimento de fotoassimilados via exsudação radicular para as metanogênicas, que se encontram em ambiente reduzido, no caso o solo alagado, parece ser mais influenciado pela taxa de assimilação liquida de CO_2 e pela condutância estomática do que a própria emissão de CH_4. A explicação para tal fato pode ser morfológica, ou seja, células de aerênquimas ou estômatos maiores ou, até mesmo, uma área foliar maior, como no caso das cultivares tradicionais de arroz. Assim, altas taxas de emissão de CH_4 não podem ser vinculadas a uma única variável e sim as combinações de características fisiológicas e morfológicas interagentes.

No sentido de se avaliar os efeitos diretos e indiretos das varaiáveis fisiológicas e do COT exsudado das raizes (caracteres secundários) sobre a varaiável principal (caractere primário), emissão pontual de CH_4 nas duas leituras, foi realizada a análise de trilha dos dados *(path analysis)*. Porém, foram observados efeitos de muticolinariedade quando utilizadas essa variáveis em ambas as leituras, devido a apresentação de fatores de inflação da variância (FIVs) maiores ou iguais a 0 nas duas leituras e o número de condição (NC) foi >1000 (4064 e 2408, respectivamente) para as duas leituras. Estes NC's são classificados como de multicolinearidade severa, conforme os critérios sugeridos por MONTGOMERY; PECK (1981). A multicolinearidade severa superestima tanto os valores dos coeficientes de correlações quanto os efeitos diretos sobre o caractere primário estimados através da análise de trilha (COIMBRA et al., 2005).

Nesta situação, as variáveis que contribuíram para a multicolinearidade severa foram eliminadas da análise de trilha. No entanto, os valores de coeficiente de determinação foram muito baixos (0,22 e 0,006) com relação aos valores dos efeitos residuais (0,87 e 0,99), não sendo válido apresentar a tabela desta análise.

7.4 CONCLUSÕES

As cultivares de arroz irrigado apresentaram diferença entre si quanto ao carbono orgânico total (COT) exsudado das raízes, sendo as cultivares de ciclo precoce as que apresentam valores menores de COT. O COT exsudado das raízes de arroz obteve maior correlação com a matéria seca da parte aérea do que com a matéria seca das raízes.

Cultivares tradicionais alcançaram um valor expressivo de emissão de CH_4, mesmo apresentando um pequeno conteúdo de COT exsudado das raízes. A dinâmica de efluxo de CH_4 foi bem mais correlacionada com o carbono orgânico dissolvido na solução do solo do que com o COT exsudado das raízes de cultivares de arroz.

Os parâmetros agronômicos e fisiológicos apresentaram maior correlação com o COT exsudado das raízes das cultivares do que com a emissão pontual ou acumulada de CH_4.

As cultivares que emitiram mais CH_4 também foram as cultivares que alcançaram as maiores produtividades de modo geral.

8. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A busca por estratégias para mitigar os efluxos de gases de efeito estufa na agricultura, em especial o efluxo de CH_4 no cultivo do arroz irrigado, tem sido relatada por diversos cientistas. Na literatura muitos trabalhos apresentam como é o impacto do manejo da água, da adubação e do solo nas emissões de CH_4 em áreas com cultivo do arroz irrigado. Porém, com o estímulo do uso de culturas alternativas em áreas de terras baixas destinadas ao cultivo do arroz irrigado, uma diversidade de resíduos (leguminosas e gramíneas) são adicionados ao solo, e com o alagamento do mesmo ocorre a produção de ácidos orgânicos de cadeia curta via fermentação através da decomposição dos resíduos presentes no solo, sendo que esses ácidos orgânicos produzidos (ácido acético, propiônico e butírico) vão interferir diretamente na dinâmica de emissão de CH_4 logo no início do cultivo do arroz.

Com o estudo I desta tese foi possível observar que existe uma dinâmica de emissão de CH_4 diferenciada entre os três ácidos orgânicos de cadeia curta, mesmo utilizando-se uma mesma dose de carbono, e que a emissão mais rápida e de maior intensidade alcançada é obtida com a aplicação do ácido acético em relação a aplicação dos outros dois ácidos. Foi possível, também, observar que com a aplicação do ácido propiônico houve uma diminuição na eficiência de transformação do acetato, CO_2 e H_2 a CH_4 nas condições em que foi conduzido o experimento e que a aplicação do ácido butírico produziu picos de emissão de CH_4 mais atrasados, mais prolongados com relação aos outros dois ácidos e apresentou uma eficiência de transformação bem semelhante ao ácido acético.

Desta forma, o estudo I pode elucidar algumas dúvidas com relação a dinâmica da emissão do CH_4 proveniente da degradação de ácidos orgânicos de cadeia curta formados por processos de fermentação dos compostos orgânicos presentes, tanto na matéria orgânica do solo como nos resíduos que podem ser depositados. A compreensão desta dinâmica pode ajudar na mitigação do efluxo de CH_4 em áreas de cultivo de arroz irrigado onde são utilizadas outras espécies vegetais como culturas alternativas.

Outra estratégia de mitigação no efluxo de CH_4 em arrozais irrigados seria o uso de cultivares com menor capacidade de emissão de CH_4 para a atmosfera, pelo fato das cultivares de arroz apresentarem características morfofisiológicas distintas, associadas a maior ou menor atividade fotossintética, impulsionando a liberação de

carbono via exsudatos radiculares, desta forma, as seleções de cultivares aparecem como tecnologia para mitigar os efluxos de CH_4 sem diminuir a produtividade do arroz.

Através do estudo II desta tese foi possível constatar que existem diferenças entre as cultivares de arroz irrigado utilizadas no Rio Grande do Sul quanto ao carbono exsudado de suas raízes que pode funcionar como matéria-prima para as bactérias no processo da metanogênese e que esta exsudação se relaciona com os aspectos agronômicos e fisiológicos, porém, a emissão de CH_4 não pode ser bem relacionada com o carbono orgânico total exsudado das raízes do arroz, pelo fato desta emissão ser uma combinação de características fisiológicas e morfológicas interagentes, onde deve-se considerar também, o tipo de arquitetura e o ciclo de cada cultivar.

Deste modo, o estudo II pode tornar mais clara a compreensão de como os aspectos agronômicos e fisiológicos de diferentes cultivares de arroz irrigado utilizadas por produtores no Rio Grande do Sul influenciam na oferta de carbono para as bactérias metanogênicas via exsudatos radiculares e como esses aspectos podem influenciar na produtividade do arroz. Estes resultados podem auxiliar em estudos futuros com modelagem de parâmetros fisiológicos da planta, possibilitando a estimativa de possíveis mitigações no efluxo de CH_4.

9. PERSPECTIVA DE ESTUDOS FUTUROS

Diante dos questionamentos que foram surgindo no decorrer da execução deste trabalho de tese são sugeridos alguns procedimentos que podem ser partes integrantes de novos estudos que busquem aprofundar o conhecimento relativo aos dois picos de emissão de CH_4 em lavouras de arroz irrigado:

No caso do estudo I:

- Diminuir o intervalo da coleta de gás para se ter uma avaliação mais detalhada da dinâmica do CH_4 após a aplicação dos ácidos no solo;

- Testar a aplicação de ácidos em proporções diferentes em um mesmo tratamento, pois a campo são vários tipos de ácidos produzidos simultaneamente pelo processo de fermentação;

- Investigar a diversidade microbiana e a filogenia de bactérias metanogênicas que são mais beneficiadas com a aplicação dos ácidos orgânicos e em diferentes temperaturas de incubação. Essa investigação pode ser feita a partir de técnicas moleculares como a reação em cadeia da polimerase (PCR) e a eletroforese em gel de gradiente desnaturante (DGGE);

No estudo II:

- Utilização da marcação com isótopo ^{13}C em estudos futuros relacionado a compostos presentes nos exsudatos ou decomposição de resíduos que podem vir a ser fonte de carbono para as bactérias metanogênicas;

- Quantificação dos ácidos orgânicos provenientes da exsudação radicular de cultivares de arroz irrigado que também podem ser utilizados como matéria-prima no processo de metanogênese;

- Análise do teor de amilose nos grãos das diferentes cultivares de arroz irrigado para correlacionar a quantidade de carbono fixada usada na síntese do amido com a quantidade translocada para as raízes e exsudada;

- Validação do experimento a campo para confirmar se as respostas obtidas em condições controladas refletem as condições de campo;

- Estudos de modelagem nos parâmetros fisiológicos das plantas de arroz, associados a fatores ambientais nas diferentes regiões orizícolas do Rio Grande do Sul.

10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADACHI, S.; TSURU, Y.; NITO, N.; MURATA, K.; YAMAMOTO, T.; EBITANI, T.; OOKAWA, T.; HIRASAWA, T. Identification and characterization of genomic regions on chromosomes 4 and 8 that control the rate of photosynthesis in rice leaves. **Journal of Experimental Botany**, v. 62, p. 1927-1938, 2011.

ADAMS, H. E.; CRUMP, B. C.; KLING, G. W. Temperature controls on aquatic bacterial production and community dynamics in arctic lakes and streams. **Environmental microbiology**, v. 12, p. 1319-1333, 2010.

AGNIHOTRI, R. K.; PALNI, L. M. S.; SINGH, B.; PANGTEY, Y. P. S. Evaluation of fodder quality of straw of different landraces of rice (*Oryza sativa* L.) under cultivation in Kumaun region of Central Himalaya. **International Journal of Sustainable Development and World Ecology**, v. 10, p.391-400, 2003.

ALPANA, S.; VISHWAKARMA, P.; ADHYA, T. K.; INUBUSHI, K.; DUBEY, S. K. Molecular ecological perspective of methanogenic archaeal community in rice agroecosystem. **Science of the Total Environment**, v. 596, p. 136-146, 2017.

AQUINO, S. F.; CHERNICHARO, C. A. L. Acúmulo de ácidos graxos voláteis (AGV) em reatores anaeróbios sob estresse: causas e estratégias de controle. **Revista de Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 10, p. 152-161, 2005.

AULAKH, M. S.; WASSMANN, R.; BUENO, C.; RENNENBERG, H. Impact of root exudates of different cultivars and plant development stages of rice (*Oryza sativa* L.) on methane production in a paddy soil. **Plant and Soil**, v. 230, p.77-86, 2001.

AULAKH, M. S.; WASSMANN, R.; RENNENBERG, H. Methane transport capacity of twenty two rice cultivars from five major Asian rice growing countries. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 91, p. 59-71, 2002.

BALDACIN, A. C. S.; PINTO, G. M. F. Biodigestão Anaeróbia da Vinhaça: Aproveitamento Energético do Biogás. **Revista Eletrônica FACP**, v. 7, p. 1-47, 2015.

BARREDO, M. S.; EVISON, L. M. Effect of propionate toxicity on methanogen-enriched sludge, methanobrevibacter-smithii, and methanospirillum-hungatii at different pH values. **Applied and environmental microbiology**, v. 57, p. 1764-1769, 1991.

BARUAH, K. K.; GOGOI, B.; GOGOI, P. Plant physiological and soil characteristics associated with methane and nitrous oxide emission from rice paddy. **Physiology and Molecular Biology of Plants**, v. 16, p. 79-91, 2010.

BAYER, C.; AMADO, T. J. C.; TORNQUIST, C. G.; CERRI, C. E. C.; DIECKOW, J.; ZANATTA, J. A.; NICOLOSO, R. S. Estabilização do carbono no solo e mitigação das emissões de gases de efeito estufa na Agricultura Conservacionista. **Tópicos Ciência do solo**, v. 7, p. 55-118, 2011.

BAYER, C.; COSTA, F. S.; PEDROSO, G. M.; ZSCHORNACK, T.; CAMARGO, E. S.; LIMA, M. A.; FRIGHETO, R. T. S.; GOMES, J.; MARCOLIN, E.; MACEDO, V. R. M. Yield-scaled greenhouse gas emissions from flood irrigated rice under long-term conventional tillage and no-till systems in a Humid Subtropical climate. **Field Crops Research**, v. 162, p. 60-69, 2014.

BHATTACHARYYA, P.; ROY, K. S.; NEOGI, S.; MANNA, M. C.; ADHYA, T. K.; RAO, K. S.; NAYAK, A. K. Influence of elevated carbon dioxide and temperature on belowground carbon allocation and enzyme activities in tropical flooded soil planted with rice. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 185, p. 8659-8671, 2013.

BOHNEN, H.; Silva, S. L.; MACEDO M. V. R.; MARCOLIN, E. Ácidos orgânicos na solução de um gleissolo sob diferentes sistemas de cultivo com arroz irrigado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 29, p. 475-480, 2005.

BOHRZ, G. I. **Geração de metano em lagoa anaeróbia: um estudo de caso em abatedouro de bovinos.** 2010. 153 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Processos) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, 2010.

CAI, Z. C.; XING, H.; YAN, X.; XU, H.; TSURUTA, H.; YAGI, K.; MINAMI, K. Methane and nitrous oxide emissions from rice paddy fields as affected by nitrogen fertilizers and water management. **Plant Soil**, v. 196, p. 7-14, 1997.

CAMARGO, E. S.; PEDROSO, G. M.; MINAMIKAWA, K.; SHIRATORI, Y.; BAYER, C. Intercontinental comparison of greenhouse gas emissions from irrigated rice fields under feasible water management practices: Brazil and Japan. **Soil Science and Plant Nutrition**, v. 64 p. 59-67, 2018.

CAMARGO, F. A. O.; SANTOS, G. A.; ZONTA, E. Alterações eletroquímicas em solos inundados**. Ciência Rural**, v. 29, p. 171-179, 1999.

CENTRITTO, M.; LAUTERI, M.; MONTEVERDI, M. C.; SERRAJ, R. Leaf gas exchange, carbon isotope discrimination, and grain yield in contrasting rice genotypes subjected to water deficits during the reproductive stage. **Journal of Experimental Botany**, v. 60, p. 2325-2339, 2009.

CHENG, W. G.; KOBAYASHI, K. CH_4 emission with diferences in atmospheric CO_2 enrichment and rice cultivars in a Japanese paddy soil. **Global Change Biologic**, v. 14, p. 2678-2687, 2008.

CHENG, W.; JOHNSON, D. W.; FU, S. Rhizosphere effects on decomposition. **Soil Science Society of America Journal**, v. 67, p. 1418-1427, 2003.

CHERNICHARO, C. A. L. **Reatores Anaeróbios**. 2º. ed. rev. ampl. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental da UFMG, 2007. 377 p.

CHIDTHAISONG, A.; OBATA, H.; WATANABE, I. Methane formation and substrate utilisation in anaerobic rice soils as affected by fertilisation. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 31, p. 135-143, 1999.

CHIDTHAISONG, A.; WATANABE, I. Methane formation and emission from rice soil incorporated with ^{13}C-labeled rice straw. **Soil Biologic Biochemical**, v. 29, p.1173-1181, 1997.

CHIN, K. J.; CONRAD, R. Intermediary metabolism in methanogenic paddy soil and the influence of temperature. **FEMS microbiology ecology**, v. 18, p.85-102, 1995.

CICERONE, R. J.; DELWICHE, C. C.; TYLER, S. C.; ZIMMERMANN, P. R. Methane emissions from California rice paddies with varied treatments. **Global Biogeochemical Cycles.** v. 6, p. 233-248, 1992.

COIMBRA, J. L. M.; BENIN, G.; VIEIRA, E. A.; OLIVEIRA, A. C.; CARVALHO, F. I. F.; GUIDOLIN, A. F.; SOARES, A. P. Consequências da multicolinearidade sobre a Análise de Trilha canola. **Ciência Rural**, v. 35, p. 347-352, 2005.

CONRAD, R. Contribution of hydrogen to methane production and control of hydrogen concentrations in methanogenic soils and sediments. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 28, p. 193-202, 1999.

CONRAD, R. Control of microbial methane production in wetland rice fields. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, v. 64, p. 59-69, 2002.

CONRAD, R.; KLOSE, M. Anaerobic conversion of carbon dioxide to methane, acetate and propionate on washed rice roots. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 30, p. 147-155, 1999.

COPETTI, A. C. C. **Emissão de óxido nitroso e metano em um planossolo alagado em casa de vegetação**. 2014. 97 f. Tese (Doutorado em Ciência do Solo) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, 2014.

COSTA, F. S. **Estoques de carbono orgânico e efluxos de dióxido de carbono e metano de solos em preparo convencional e plantio direto no subtrópico brasileiro**. 2005. 145 f. Tese (Doutorado em Ciência do Solo) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, 2005.

COUNCE, P. A.; KEISLING, T. C.; MITCHELL, A. J. A uniform, objective, and adaptative system for expressing rice development. **Crop Science**, v. 40, p. 436-443, 2000.

CRUZ, C. D. **Programa Genes: Análise multivariada e simulações**. Viçosa: UFV, 2006. Disponivel em:<http://arquivo.ufv.br/dbg/genes/gdown1.htm>. Acesso em 14 abr. 2016.

DAS, K.; BARUAH, K. K. Methane emission associated with anatomical and morphophysiological characteristics of rice (*Oryza sativa*) plant. **Physiologia plantarum**, v. 134, p. 303-312, 2008.

DE SÁ, L. R. V.; CAMMAROTAN, M. C.; FERREIRA-LEITÃO, V. S. Produção de hidrogênio via fermentação anaeróbia–aspectos gerais e possibilidade de utilização de resíduos agroindustriais brasileiros. **Química Nova**, v. 37, p. 857-867, 2014.

DEMIREL, B.; SCHERER, P. The roles of acetotrophic and hydrogenotrophic methanogens during anaerobic conversion of biomass to methane: a review. **Environmental Science and Bio/Technology**, v. 790, p. 173-190, 2008.

DEMIREL, B.; SCHERER, P. Trace element requirements of agricultural biogas digesters during biological conversion of renewable biomass to methane. **Biomass and Bioenergy**, v. 35, p. 992-998, 2011.

DEMIREL, B.; YENIGUN, O. The effects of change in volatile fatty acid (VFA) composition on methanogenic upflow filter reactor (UFAF) performance. **Environmental technology**, v. 23, p. 1179-1187, 2002.

DINGKUHN, M.; FARQUHAR, G. D.; DE DATTA, S. K.; O'TOOLE, J. C. Discrimination of ^{13}C among upland rices having different water use efficiencies. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 42, p. 1123-1131, 1991.

DONG, B.; XIA, Z.; SUN, J.; DAI, X.; CHEN, X.; NI, B. J. The inhibitory impacts of nano-graphene oxide on methane production from waste activated sludge in anaerobic digestion. **Science of the Total Environment**, v. 646, p. 1376-1384, 2019.

DORAN, G.; EBERBACH, P.; HELLIWELL, S. The impact of rice plant roots on the reducing conditions in flooded rice soils. **Chemosphere**, v. 63, p. 1892-1902, 2006.

DUBEY, S. K. Microbial ecology of methane emission in rice agroecosystem: a review. **Applied Ecology and Environmental Research**, v. 3, p. 1-27, 2005.

EL-FADEL, M.; MASSOUD, M. Methane emissions from wastewater management. **Environmental Pollution**, v. 114, p. 177-185, 2001.

EL-MASHAD, H.; ZEEMAN, G.; VAN LOON, W. K. P.; BOT, G. P. A.; LETTINGA, G. Effect of temperature and temperature fluctuation on thermophilic anaerobic digestion of cattle manure. **Bioresource technology**, v. 95, p. 191-201, 2004.

EL-SHARKAWI, H. M.; SHERIF, A.; ZAHOOR, A.; YAMAMOTO, S.; ENDO, T. Methane emission and its relations with plant parameters and dissolved oxygen in different rice genotypes. **Journal of food, agriculture & environment**, v. 7, p. 463-470, 2009.

EMBRAPA-Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. 3º ed. rev. ampl. Brasília, 2013. 353 p.

FALQUETO, A. R., CASSOL, D., MAGALHÃES JÚNIOR, A. M. D., OLIVEIRA, A. D., & BACARIN, M. A. Crescimento e partição de assimilados em cultivares de arroz diferindo no potencial de produtividade de grãos. **Bragantia**, v. 68, p. 563-571, 2009.

FARQUHAR, G. D.; SHARKEY, T. D. Stomatal conductance and photosynthesis. **Annual Review of Plant Physiology**, v. 33, p. 317-345, 1982.

FEY, A.; CONRAD, R. Effect of temperature on carbon and electron flow and on the archaeal community in methanogenic rice field soil. **Applied and environmental microbiology**. v. 66, p. 4790-4797, 2000.

FILGUEIRAS, L. M. B. **Eficiência de *Gluconacetobacter diazotrophicus* no aumento da tolerância de arroz vermelho à deficiência hídrica durante a fase reprodutiva**. 2015. 125 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) – Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, PB, 2015.

FILGUEIRAS, L. M. B.; MENESES, C. H. S. G. Efeito das bactérias promotoras de crescimento de plantas na proteção contra o estresse hídrico. **Journal of Biology & Pharmacy and Agricultural Management**, v. 11, p. 21-30, 2015.

FURLANI, A. M. C.; FURLANI, P. R. **Composição e pH de soluções nutritivas para estudos fisiológicos e seleção de plantas em condições nutricionais adversas.** Campinas, Instituto Agronômico, 1988. 34p. (Boletim técnico, 121).

GARCIA-ORENES, F.; GUERRERO, C.; ROLDÁN, A.; MATAIX-SOLERA, J.; CERDÀ, A.; CAMPOY, M.; ZORNOZA, R.; BÁRCENAS, G.; CARAVACA, F. Soil microbial biomass and activity under different agricultural management systems in a semiarid Mediterranean agroecosystem. **Soil & Tillage Research**, v.109, p. 110-115, 2010.

GOGOI, N.; BARUAH, K. K.; GOGOI, B.; GUPTA, P. K. Methane emission characteristics and its relations with plant and soil parameters under irrigated rice ecosystem of North India. **Chemosphere**, v. 59, p. 1677-1684, 2005.

GON, H. A. C.; NEUE, H. U. Influence of organic matter incorporation on the methane emission from a wetland rice field. **Global biogeochemical cycles**. v. 9, p. 11-22, 1995.

GONÇALVES, G. K.; MEURER, E. J.; BORTOLON, L.; GONÇALVES, D. R. N. Relação entre óxidos de ferro e de manganês e a sorção de fósforo em solos no Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 35, p. 1633-1639, 2011.

GONÇALVES, G. K.; SOUSA, R. O.; VAHL, L. C.; BORTOLON, L. Solubilização dos fosfatos naturais Patos de Minas e Arad em dois solos alagados. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 32, p. 2157-2164, 2008.

GU, J.; YIN, X.; STHOMP, T. J.; HUANG, H.; STRUICK, P.C. Physiological basis of genetic variation in leaf photosynthesis among rice (*Oryza sativa* L.) introgression lines under drought and well-watered conditions. **Journal of Experimental Botany**, v. 63, p. 5137-5153, 2012.

GUNERATNAM, A. J.; AHERN, E.; FITZGERALD, J. A.; JACKSON, S. A.; XIA, A.; DOBSON, A. D. W.; MURPHY, J. D. Study of the performance of a thermophilic biological methanation system. **Bioresource Technology**, v. 15, p. 225-308, 2017.

GUTIERREZ, J.; KIM, S. Y.; KIM, P. J. Effect of rice cultivar on CH_4 emissions and productivity in Korean paddy soil. **Field Crops Research**, v. 146, p. 16-24, 2013.

HEJNFELT, A.; ANGELIDAKI, I. Anaerobic digestion of slaughterhouse by-products. **Biomass and bioenergy**, v. 33, p. 1046-1054, 2009.

HIRASAWA, T. Water relations in plants. In: MATSUO, T.; HOSHIKAWA, K.; KUMAZAWA, K.; ISHII, R.; ISHIHARA, K.; HIRATA, H. (Ed.) **Science of the of rice plant.** Tokyo: Food and Agriculture Policy Research Center, 1995, p. 434-460.

HIRAYAMA, M.; WADA, Y.; NEMOTO, H. Estimation of drought tolerance based on leaf temperature in upland Rice breeding. **Breeding Science**, v. 56, p. 47-54, 2006.

HOLZSCHUH, M. J.; CARLOS, F. S.; CARMONA, F. D. C.; BOHNEN, H.; ANGHINONI, I. Iron oxidation on the surface of adventitious roots and its relation to aerenchyma formation in rice genotypes. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 38, p. 185-192, 2014.

IMPA, S. M.; NADARADJAN, S.; BOOMINATHAN, P.; SHASHIDHAR, G.; BINDUMADHAVA, H.; SHESHSHAYEE, M. S. Carbon isotope discrimination accurately reflects variability in WUE measured at a whole plant level in rice. **Crop Science**, v. 45, p. 2517-2522, 2005.

IPCC-Intergovernmental Panel on Climate Change. **Climate change 2014: mitigation of climate change**. v. 3. Cambridge: Cambridge University Press, 2015. 167 p.

IRGA. **Censo da lavoura de arroz irrigado do Rio Grande do Sul – safra 2004/2005** Camilo Feliciano de Oliveira (Coord.). – Porto Alegre: IRGA - Política Setorial, 2006. 122 p.

IRGA. **Dados de safra 2017/18 – Evolução de colheita 2017/18**. Disponível em: http://www.irga.rs.gov.br/upload/20180518141007evolucao_colheita_17_18.pdf. Acesso em: 29 de maio de 2018.

IRRI-International Rice Research Institute. **Annual Report 2013**. Filipinas: IRRI, 2013. 10p.

ITOH, M.; SUDO, S.; MORI, S.; SAITO, H.; YOSHIDA, T.; SHIRATORI, Y.; SUGA, S.; YOSHIKAWA, N.; SUZUE, Y.; MIZUKAMI, H.; MOCHIDA, T.; YAGI, K. Mitigation of methane emissions from paddy fields by prolonging midseason drainage. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 141, p. 359-372, 2011.

JIANG, G. M., GAO, N. B., BAI, K. Z., ZHANG, Q. D., SUN, J. Z., GUO, R. J., GE, Q. Y., KUANG, T. Y. Chain correlation between variables of gas exchange and yield potential in different winter wheat cultivars. – **Photosynthetica**, v. 38, p. 227-232, 2000.

JODO, S. Water use and drought resistance. In: MATSUO, T.; KUMAZAWA, K.; ISHII, R.; ISHIHARA, K.; HIRATA, H. (Ed.). **Science of the rice plant physiology**. Tokyo: Food and Agriculture Policy Research Center, 1995, p. 461-483.

JUSTIN, S. H. F. W.; ARMSTRONG, W. Evidence for the involvement of methene in aerenchyma formation in adventitious roots of rice (*Oryza sativa* L.). **New Phytologist**, v. 118, p. 49-62, 1991.

KARADAGLI, F.; RITTMANN, B. E. Kinetic characterization of Methanobacterium bryantii M.o.H. **Environmental Science & Technology**, v. 39, p. 4900-4905, 2005.

KERDCHOECHUEN, O. Methane emission in four rice varieties as related to sugars and organic acids of roots and root exudates and biomass yield. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 108, p.155-163, 2005.

KIM, H. Y.; LIEFFERING, M.; MIURA, S.; KOBAYASHI, K.; OKADA, M. Growth and nitrogen uptake of CO_2-enriched rice under field conditions. **New Phytologist**, v. 150, p. 223-229, 2001.

KIM, S. Y.; LEE, C. H.; GUTIERREZ, J.; KIM, P. J. Contribution of winter cover crop amendments on global warming potential in rice paddy soil during cultivation. **Plant and Soil**, v. 366, 273-286, 2013.

KIRCHMAN, D. L.; MORÁN, X. A. G.; DUCKLOW, H. Microbial growth in the polar oceans—role of temperature and potential impact of climate change. **Nature Reviews Microbiology**, v. 7, p. 451-459, 2009.

KOBAYASHI, A.; HORI, K.; YAMAMOTO, T.; YANO, M. Koshihikari: a premium short-grain rice cultivar–its expansion and breeding in Japan. **Rice**, v. 11 p. 1-12, 2018.

KÖGEL-KNABNER, I.; AMELUNG, W.; CAO, Z.; FIEDLER, S.; FRENZEL, P.; JAHN, R.; KALBITZ, K.; KÖLBL, A.; SCHLOTER, M. Biogeochemistry of paddy soils. **Geoderma**, v. 157, p. 1-14, 2010.

KONDO, M.; AGUILAR, A.; ABE, J.; MORITA, S. Anatomy of nodal roots in tropical upland and lowland rice varieties. **Plant production science**, v. 3, p. 437-445, 2000.

KOTSYURBENKO O. R. Trophic interactions in the methanogenic microbial community of low-temperature terrestrial ecosystems. **FEMS microbiology ecology**, v. 53, p. 3-13, 2005.

KOTSYURBENKO, O .R.; GLAGOLEV, M. V.; NOZHEVNIKOVA, A. N.; CONRAD, R. Competition between homoacetogenic bacteria and methanogenic archaea for hydrogen at low temperature. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 38, p. 153-159, 2001.

KOTSYURBENKO, O. R.; CHIN, K. J.; GLAGOLEV, M. V.; STUBNER, S.; SIMANKOVA, M. V.; NOZHEVNIKOVA, A. N.; CONRAD, R. Acetoclastic and hydrogenotrophic methane production and methanogenic populations in an acidic West-Siberian peat bog. **Environmental microbiology**, v. 6, p. 1159-1173, 2004.

KUSUMI, K.; HIROTSUKA, S.; KUMAMARU, T.; IBA, K. Increased leaf photosynthesis caused by elevated stomatal conductance in a rice mutant deficient in

SLAC1, a guard cell anion channel protein. **Journal of Experimental Botany**, v. 63, p. 5137-5153, 2012.

KUZYAKOV, Y. Priming effects: interactions between living and dead organic matter. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 42, p. 1363-1371, 2010.

LAI, Y. C.; SYU, C. H.; WANG, P. J.; LEE, D. Y.; FAN, C.; JUANG, K. W. Field experiment for determining lead accumulation in rice grains of different genotypes and correlation with iron oxides deposited on rhizosphere soil. **Science of The Total Environment**, v. 610, p. 845-853, 2018.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: Rima, 2006. 753p.

LARCHER, W. **Physiological plant ecology**. 3 ed. Berlin: Springer-Verlag, 2003. 513p.

LAWLOR, D. W. Limitation to photosynthesis in water-stressed leaves: stomata vs. metabolism and the role of ATP. **Annals of Botany**, v. 89, p.871-885, 2002.

LE MER, J.; ROGER, P. Production, oxidation, emission and consumption of methane by soils: a review. **European Journal Soil Biology**, v. 37, p. 25-50, 2001.

LEIGH, J. A.; ALBERS, S. V., ATOMI, H.; ALLERS, T. Model organisms for genetics in the domain Archaea: methanogens, halophiles, Thermococcales and Sulfolobales. **FEMS microbiology reviews**, v. 35, p. 577-608, 2011.

LEMOS, M. **Sistema modular para o tratamento de esgoto doméstico em assentamento rural e reuso para produção de girassol ornamental**. 2011. 172 f. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo. Área de Concentração: Manejo e Conservação do Solo) – Universidade Federal Rural do Semiárido, Mossoró, RN, 2011.

LILJEROTH, E.; KUIKMAN, P.; VAN VEEN, J. A. Carbon translocation to the rhizosphere of maize and wheat and influence on the turnover of native soil organic matter at different soil nitrogen levels. **Plant and Soil**, v. 16, p. 12-33, 1994.

LIOU, R.; HUANG, S.; LIN, C. Methane emission from fields with differences in nitrogen fertilizers and rice varieties in Taiwan paddy soils. **Chemosphere**, v. 50, p. 237-246, 2003.

LORENÇONI, R. Assimilação de CO_2 de genótipos modernos e tradicionais de arroz submetidos ao estresse hídrico. **Brazilian journal of agriculture-Revista de Agricultura**, v. 89, p. 127-140, 2014.

LU, Y.; WASSMANN, R.; NEUE, H. U.; BUENO, C. HUANG, C. Methanogic responses to exogenous substrates in anaerobic rice soils. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 32, p.1683-1690, 2000.

MACHADO, E. C.; MEDINA, C. L.; GOMES, M. M. A. Teor de água no substrato de crescimento e fotossíntese em laranjeira “Valença”. **Bragantia**, v.58, p.217-226, 1999.

MACHADO, E. C.; SCHMIDT, P. T.; MEDINA, C. L.; RIBEIRO, R. V. Respostas da fotossíntese de três espécies de citros a fatores ambientais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 40, p. 1161-1170, 2005.

MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; BENDER, K. S.; BUCKLEY, D. H.; STAHL, D. A. **Microbiologia de Brock**. 14ª Ed. Porto Alegre: Artmed Editora, 2016. 987 p.
MAGALHÃES JUNIOR, A. M.; GOMES, A. S. **Arroz irrigado: melhoramento genético, manejo do solo e da água e prognóstico climático.** Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2003, 77p.

MARCHESAN, E. **Características de cultivares de arroz irrigado**. Santa Maria, RS: 2006. 94 p.

MCTIC, 2017. **Estimativas anuais de emissões de gases de efeito estufa no Brasil**. Brasília, DF: Ministério da ciência, tecnologia, inovações e comunicações. 4º ed, 91 p.

MITRA, S.; MAJUMDAR, D.; WASSMANN, R. Methane production and emission in surface and subsurface rice soils and their blends. **Agriculture, ecosystems and environment**, v. 158, p. 94-102, 2012.

MONTGOMERY, D. C.; PECK, E. A. **Introduction to linear regression analysis**. New York: J. Wiley, 1981. 504p.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. Lavras, Universidade Federal de Lavras, 2002. 625p.

MOSIER, A. R. Chamber and isotopic techniques. In: ANDREAE, M. O.; SCHIMEL, D. S. **Exchange of traces gases between terrestrial ecosystems and the atmosphere: report of the Dahlem**. Workshop. Berlin: John Wiley & Sons, p.175-187, 1989.

MOTERLE, D. F. **Efluxo de metano em solo sob manejos de irrigação e cultivares de arroz irrigado.** 2011. 146 f. Tese (Doutorado em Ciência do Solo) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, 2011.

NEDWELL, D. B. Effect of low temperature on microbial growth: lowered affinity for substrates limits growth at low temperature. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 30, p. 101-111, 1999.

NEUE, H. U.; GAUNT, J. L.; WANG, Z. P.; BECKER-HEIDMANN, P.; QUIJANO, C. Carbon in tropical wetlands. **Geoderma**, v. 79, p.163-185, 1997.

NOGUEIRA, A. P. O.; SEDIYAMA, T.; DE SOUSA, L. B.; HAMAWAKI, O. T.; CRUZ, C. D.; PEREIRA, D. G.; MATSUO, É. Análise de trilha e correlações entre caracteres

em soja cultivada em duas épocas de semeadura. **Bioscience Journal**, v. 28, p. 877-888, 2012.

NTANOS, D. A.; KOUTROUBAS, S. D. Dry matter and N accumulation and translocation for Indica and Japonica rice under Mediterranean conditions. **Field Crops Research**, v. 74, p. 93-101, 2002.

OHSUMI, A.; HAMASAKI, A.; NAKAGAWA, H.; HOMMA, K.; HORIE, T.; SHIRAIWA, T. Response of leaf photosynthesis to vapor pressure difference in rice (Oryza sativa L) varieties in relation to stomatal and leaf internal conductance. **Plant Production Science**, v. 11, p. 184-191, 2008.

OHSUMI, A.; KANEMURA, T.; HOMMA, K.; HORIE, T.; SHIRAIWA, T. Genotypic variation of stomatal conductance in relation to stomatal density and length in rice (*Oryza Sativa* L.). **Plant Production Science**, v. 10, p. 322-328, 2007.

OLIVEIRA, V. D.; JUNIOR, P. P.; SOUZA, C. B. Construção de biodigestor para produção de biogás em diferentes potenciais hidrogeniônicos. **UNILUS Ensino e Pesquisa**, v. 14, p. 56-67, 2017.

PATRICK, W. H.; REDDY, C. N. Chemical changes in rice soils. In: **Soils and Rice**, Los Banos: IRRI, p. 361-379, 1978.

PEARCY, R. W.; PFITSCH, W. A. Influence of sunflecks on the δ 13 C of Adenocaulon bicolor plants occurring in contrasting forest understory microsites. **Oecologia**, v. 86, p. 457-462, 1991.

PENDALL, E.; BRIDGHAM, S.; HANSON, P. J.; HUNGATE, BRUCE A.; KICKLIGHTER, D. W.; JOHNSON, D. W.; LAW, B. E.; LUO, Y.; MEGONIGAL, J. PATRICK; OLSRUD, M.; RYAN, M. G.; WAN, S. Below-ground process responses to elevated CO_2 and temperature: a discussion of observations, measurement methods, and models. **New Phytologist**, v. 162, p. 311-322, 2004.

PENG, S,; LAZA, R. C.; KHUSH, G. S.; SANICO, A. L.; VISPERAS, R. M.; GARCIA, F. V. Transpiration efficiencies of indica and improved tropical japonica rice grown under irrigated conditions. **Euphytica**, v. 103, p. 103-108, 1998.

PONNAMPERUMA, F. N. Some aspects of the physical chemistry of paddy soil. In: **Proceedings of the Symposium on Paddy Soils**, Beijing. Institute of Soil Science, Academia Sinica/Science Press, Berlin: p. 59-94, 1981.

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

PORTELA, M. G.; LEITE, L.F. C. Emissões de GEE pela agricultura: o caso dos cultivos de cana-de-açúcar. **Revista brasileira de climatologia**. v. 18, p. 377-388, 2016.

PUPATTO, J. G. C. **Trocas gasosas e eficiência de uso da água da cultura do arroz irrigado por aspersão em função da aplicação de silício**. 2003. 166 f. Tese

(Doutorado em Agronomia) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, SP, 2003.

QIN, X.; LI, Y. E.; WANG, H.; LI, J.; WAN, Y.; GAO, Q.; LIAO, Y.; FAN, M. Effect of rice cultivars on yield-scaled methane emissions in a double rice field in South China. **Journal of Integrative Environmental Sciences**, v. 12, p. 47-66, 2015.

REITH, J. H.; WIJFFELS, R. H.; BARTEN, H. **Bio-methane & Bio- hidrogen: status and perspectives of biological methane and hydrogen production**. Wageningen: Dutch biological hydrogen foundation, 2003. 167 p.
REN, N.; LIU, M.; WANG, A.; DING, J.; LI, H. Organic acids conversion in methanogenic-phase reactor of the two-phase anaerobic process. **Huan jing ke xue= Huanjing kexue Journals**, v. 24, p. 89-93, 2003.

RIEKERT VAN HEERDEN, P. D.; KRÜGER, G. H. J. Separately and simultaneously induced dark chilling and drought stress effects on photosynthesis, proline accumulation and antioxidant metabolism in soybean. **Journal of Plant Physiology**, v.159, p.1077-1086, 2002.

RIOS, S. A.; BOREM, A.; GUIMARAES, P. E. O.; PAES, M. C. D. Análise de trilha para carotenoides em milho. **Revista Ceres**, v. 59, p. 368-373, 2012.

ROY, R.; KLÜBER, H. D.; CONRAD, R. Early initiation of methane production in anoxic rice soil despite the presence of oxidants. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 24, p. 311-320, 1997.

RUSCHEL, A.P. O efeito estufa e a cultura arrozeira. **Lavoura Arrozeira**, Porto Alegre: v.45, p. 3-4, 1992.

SASS, R. L.; FISHER, F. M.; HARCOMBE, P. A. Mitigation of methane emissions from rice fields — possible adverse effects of incorporated rice straw. **Global Biogeochemical Cycles**. v. 5, p. 275-287, 1991.

SCHINK, B. Syntrophism among prokaryotes. In: BALOWS, A.; TRUPER, H. G.; DWORKIN, M.; HARDER, W.; SCHLEIFER, K. H. (Org.). **The prokaryotes**. New York: Springer-Verlag, 1992 p. 276-299.

SCHMIDT, F.; de Á. FORTES, M.; WESZ, J.; BUSS, G. L.; Sousa, R. O. Impacto do manejo da água na toxidez por ferro no arroz irrigado por alagamento. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 37, p. 1226-1235, 2013.

SCHNEIDER, L. T.; HEYDT, A. R.; BONASSA, G.; CREMONEZ, P. A.; TELEKEN, J. G. Biodigestão anaeróbia de manipueira com adição de glicerol em faixa termofílica. **Acta Iguazu**, v. 5, p. 49-56, 2016.

SCHNEIDERS, D.; SILVA, J. D.; TILL, A.; LAPA, K. R.; PINHEIRO, A. Atividade metanogênica específica (AME) de lodos industriais provenientes do tratamento biológico aeróbio e anaeróbio. **Ambiente & Água - An Interdisciplinary Journal of Applied Science**, v. 8, p. 135-145, 2013.

SHIMAKURA, S. E.; RIBEIRO JÚNIOR, P. J. **Estatística descritiva: interpretação do coeficiente de correlação.** Departamento de Estatística da Universidade Federal do Paraná, 2012. Disponível em: <http://leg.ufpr.br/~/ce003/ce003/node8.html>. Acesso em: 16 abr. 2017.

SILVA, A. A.; SILVA, J. F. **Tópicos em manejo de plantas daninhas**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2007. 367p.

SILVA, FLAVIANA G. DA; DUTRA, WELLISON F.; DUTRA, ALEXSON F.; OLIVEIRA, IZAAC M. DE; FILGUEIRAS, LUANNA M. B.; MELO, ALBERTO S. DE. Trocas gasosas e fluorescência da clorofila em plantas de berinjela sob lâminas de irrigação. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 19, p. 946-952, 2015.

SILVA, L. S. D.; GRIEBELER, G.; MOTERLE, D. F.; BAYER, C.; ZSCHORNACK, T.; POCOJESKI, E. Dinâmica da emissão de metano em solos sob cultivo de arroz irrigado no sul do Brasil. **Revista brasileira de ciência do solo**, v. 35, p. 473-481, 2011.

SILVA, L. S.; SOUSA, R. O.; POCOJESKI, E. Dinâmica da matéria orgânica em ambientes alagados. In: SANTOS, G. A.; SILVA, L. S.; CANELLAS, L. P.; CAMARGO, F.A.O. (Org.). **Fundamentos da matéria orgânica do solo**: ecossistemas tropicais & subtropicais. 2. ed. Porto Alegre: Metrópole, 2008, v. 1, p. 525-543.

SOCIEDADE SUL-BRASILEIRA DE ARROZ IRRIGADO (SOSBAI). **Reunião Técnica da Cultura do Arroz Irrigado Arroz irrigado (2016):** recomendações técnicas da pesquisa para o Sul do Brasil. Pelotas, RS: SOSBAI, 2016. 200 p.

SOUSA, R. O. **Oxirredução em solos alagados afetada por resíduos vegetais**. 2001. 164 f. Tese (Doutorado em Ciência do Solo) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, 2001.

SOUSA, R. O.; PERALBA, M. C. R.; MEURER, E. J. Short chain organic acid dynamics in solution of flooded soil treated with ryegrass residues**. Communications in soil science and plant analysis**, v. 33, p. 779-787, 2002.

SOUZA, C. A. V. D. **Mudanças foto-oxidativas em plantas de arroz com reduzida atividade da oxidase do glicolato submetidas ao estresse hídrico combinado ao excesso de luz e calor**. 2016. 175 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Serra Talhada, PE, 2016.

STAMS, A. J. M. Metabolic interactions between anaerobic bacteria in methanogenic environments. **Antonie van Leeuwenhoek**. v. 66, p. 271-294, 1994.

STRECK, N. A.; BOSCO, L. C.; MICHELON, S.; WALTER, L. C.; MARCOLIN, E. Duração do ciclo de desenvolvimento de cultivares de arroz em função da emissão de folhas no colmo principal. **Ciência Rural**, v. 36, p. 1086-1093, 2006.

STRECK, N. A.; MICHELON, S.; KRUSE, D. N.; BOSCO, L. C.; LAGO, I.; MARCOLIN, E.; PAULA, G. M.; SAMBORANHA, K. F. Comparação de parâmetros de crescimento e de desenvolvimento de dois biótipos de arroz vermelho com genótipos de arroz irrigado, **Bragantia**, v. 67, p. 349-360, 2008.

SU, J.; HU, C.; YAN, X.; JIN, Y.; CHEN, Z.; GUAN, Q.; WANG, Y.; ZHONG, D.; JANSSON, C.; WANG, F.; SCHNÜRER, A.; SUN, C. Expression of barley SUSIBA2 transcription fator yields high-starch low-methane rice. **Nature**, v. 523, p. 602-620, 2015.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MØLLER, I. M.; MURPHY, A. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. 6. Ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. 888 p.

TAKAHASHI, S.; MURATA, N. How do environmental stresses accelerate photoinhibition? **Trends in Plant Science**, v. 13, p. 178-182, 2008.

TANG, H. M.; XIAO, X. P.; TANG, W. G.; WANG, K.; SUN, J. M.; LI, W. Y.; YANG, G. L. Effects of winter cover crops straws incorporation on CH_4 and N_2O emission from double-cropping paddy fields in southern China. **PloS one**, v. 9, p. e108322, 2014.

TAYLARAN, R. D., ADACHI, S.; OOKAWA, T.; USUDA. H.; HIRASAWA, T. Hydraulic conductance as well as nitrogen accumulation plays a role in the higher rate of leaf photosynthesis of the most productive variety of rice in Japan. **Journal of Experimental Botany**, v. 62, p. 4067-4077, 2011.

TEDESCO, J. M.; VOLKWEISS, S. J.; BOHNEN, H. **Análises de solo, plantas e outros materiais.** Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1995. 188 p. (Boletim técnico, 5).

TERRES, A. L. S.; FAGUNDES, P. R. R.; MACHADO, M. O.; MAGALÃOES JR., A. M.; NUNES, C. D. M. Melhoramento genético e cultivares de arroz irrigado. In: GOMES, A. S.; MAGALHÃES JR., A. M. **Arroz irrigado no Sul do Brasil**. Brasília: 2004. p.161-235.

TETE, E.; VIAUD, V.; WALTER, C. Organic carbon and nitrogen mineralization in a poorly-drained mineral soil under transient waterlogged conditions: an incubation experiment. **European Journal of Soil Science**, v. 66, p. 427-437, 2015.

THAUER, R. K. The Wolfe cycle comes full circle. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 109, p. 15084-15085, 2012.

THOMSON, C.J.; ARMSTRONG, W.; WATERS, I.; GREENWAY, H. Aerenchyma formation and associated oxygen movement in seminal and nodal roots of wheat. **Plant Cell. Environ**, v. 13, p. 395-403, 1990.

TONELLO, K. C. **Comportamento ecofisiológico de clones de *Eucalyptus***. 2010.162 f. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, 2010.

TURNER, N. C.; O'TOOLE, J. C.; CRUZ, R. T.; NAMUCO, O. S.; AHMAD, S. Responses of seven diverse rice cultivars to water deficits I. Stress development, canopy temperature, leaf rolling and growth. **Field Crops Research**, v. 13, p. 257-271, 1986.

VAZOLLER, R. F.; DAMIANOVIC, M. H. R. Z.; ARAUJO, J. C. Biodegradação anaeróbica. In: MELLO, I. S.; AZEVEDO, J. L. (Eds.) **Microbiologia ambiental**. Jaguariúna: Embrapa, 2008. v. 1, p.217-260.

WALTER, L. C. **Simulação do rendimento de grão de arroz irrigado em cenários de mudança climática**. 2010. 67 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, 2010.

WANG, Y.; ZHANG, Y.; WANG, J.; MENG, L. Effects of volatile fatty acid concentrations on methane yield and methanogenic bacteria. **Biomass and bioenergy**, v. 33, p. 848-853, 2009.

WIN, K. T. R.; NONAKA, A. T.; WIN, Y.; SASADA, K.; TOYOTA, T.; MOTOBAYASHI, M. Comparison of methanotrophic bacteria, methane oxidation activity, and methane emission in rice fields fertilized with anaerobically digested slurry between a fodder rice and a normal rice variety. **Paddy Water Environ**, v. 10, p. 281-289, 2012.

WU, C.; ZOU, Q.; XUE, S.; MO, J.; PAN, W.; LOU, L.; WONG, M. H. Effects of silicon (Si) on arsenic (As) accumulation and speciation in rice (*Oryza sativa* L.) genotypes with different radial oxygen loss (ROL). **Chemosphere**, v. 138, p. 447-453, 2015.

XU H, HOSEN Y. Effects of soil water content and rice straw incorporation in the fallow season on CH4 emissions during fallow and the following rice-cropping seasons. **Plant and Soil**, v. 335, p. 373-383, 2010.

YAGI, K.; MINAMI, K. Effect of organic matter application on methane emission from Japanese paddy soils. **Soil Science and Plant Nutrition**. v. 36, p. 599-610, 1990.

YAO, H.; CONRAD, R. Thermodynamics of methane production in different rice paddy soils from China, the Philippines and Italy. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 31, p. 463-473, 1999.

YAO, H.; CONRAD, R.; WASSMANN, R.; NEUE, H. U. Effect of soil characteristics on sequential reduction and methane production in sixteen rice paddy soils from China, the Philippines, and Italy. **Biogeochemistry**, v. 47, p. 269-295, 1999.

YIQI, L.; ZHOU, X. **Soil respiration and the environment**. San Diego: Elsevier, 2010. 307p.

YOSHIDA, S. **Fundamentals of rice crop science**. Los Baños: IRRI, 1981. 269p.

YOSHIDA, S.; FORNO, D. A.; COCK, J. A.; GOMEZ, K. A. **Laboratory Manual for Physiological Studies of Rice**. Los Baños: IRRI, 1976. 83p.

YU, J.; LI-LI, W.; XIAO-JUN, Y.; YUN-LU, T.; AI-XING, D.; WEI-JIAN, Z. Super rice cropping will enhance rice yield and reduce CH_4 emission: A case study in Nanjing, China. **Rice science**, v. 20, p. 427-433, 2013.

ZABRANSKA, J.; POKORNA, D. Bioconversion of carbon dioxide to methane using hydrogen and hydrogenotrophic methanogens. Biotechnology Advances, v. 36, p. 707-720, 2017.

ZEHNDER, A. J. B. Ecology of methane formation. In: Mitchell, R. (Org.). **Water pollution microbiology**. New York: Wiley, 1978, v. 2, p. 349-376.

ZHANG, Z. Y.; YANG, Y. N.; LEI, Z. F.; CHEN, H. J.; SUGIURA, N. Kinetic difference between acetate and propionate pregrown reactors through batch methanogenesis experiments. **Japanese Journal of Water Treatment Biology**, v. 44, p. 95-107, 2008.

ZHAO, R.; ZHANG, Z.; ZHANG, R.; LI, M.; LEI, Z.; UTSUMI, M.; SUGIURA, N. Methane production from rice straw pretreated by a mixture of acetic–propionic acid. **Bioresource Technology**, v. 101, p. 990-994, 2010.

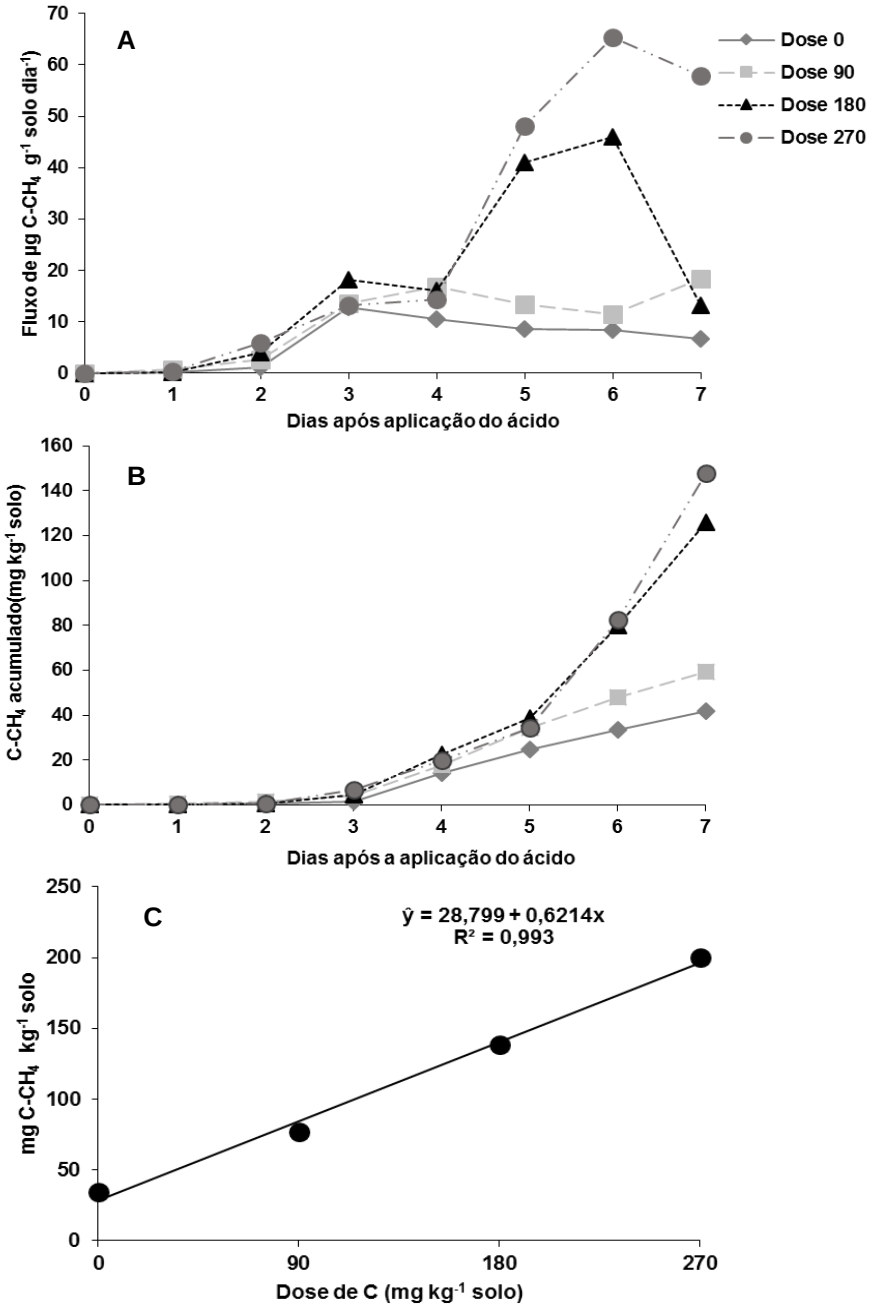
ZINDER, S. H. Physiological ecology of methanogens. In: FERRY, J. G. (Org.). **Methanogenesis: ecology, physiology, biochemistry & genetics**. New York: Chapman & Hall, 1993, p. 128-206.

ZSCHORNACK, T.; ROSA, C. M.; REIS, C. E. S.; PEDROSO, G. M.; CAMARGO, E. S.; SANTOS, D. C.; BOENI, M.; BAYER, C. Soil CH_4 and N_2O emissions from rice paddy felds in Southern Brazil as affected by crop management levels: a three year feld study. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 42, p. e0170306, 2018.

11. APÊNDICES

APÊNDICE 1 – Dados referentes ao estudo piloto realizado em incubadora tipo BOD.

Figura 1. Resultados experimento piloto. (A) Fluxo de C-CH_4 nas doses 0, 90, 180 e 270 mg C kg^{-1} solo em 7 dias após aplicação de ácido acético. (B) Emissão liquida acumulada de C-CH_4 nas doses 0, 90, 180 e 270 mg C kg^{-1} solo 7 dias após aplicação de ácido acético. (C) Regressão da emissão total de C-CH_4 em função de doses de ácido acético.



APÊNDICE 2 – Condução do estudo I.

Figura 2. Etapas de condução do experimento. (A) Primeiro experimento piloto realizado sob condição de casa de vegetação com aplicação de doses de ácido acético. (B) Aplicação de vácuo e injeção de N_2 nas unidades experimentais. (C) Aplicação dos tratamentos correspondentes as doses de carbono provenientes dos três ácidos orgânicos de cadeia curta. (D) Visão geral da coleta de gás do "*espaço livre"* das unidades experimentais.

APÊNDICE 3 – Condução do experimento I (estudo II):

Figura 3. Etapas da condução do experimento. (A) Germinação das sementes em papel toalha. (B) Detalhe do cultivo de cultivares de arroz irrigado em solução nutritiva. (C) Visão geral do experimento 5 dias após transplante. (D) Visão geral do experimento 21 dias após transplante. (E) Correção do pH da solução nutritiva para posterior troca. (F) Recolha dos exsudatos radiculares em solução de $CaSO_4$ a 0,01mol L^{-1}.

APÊNDICE 4 – Condução do experimento II (estudo II):

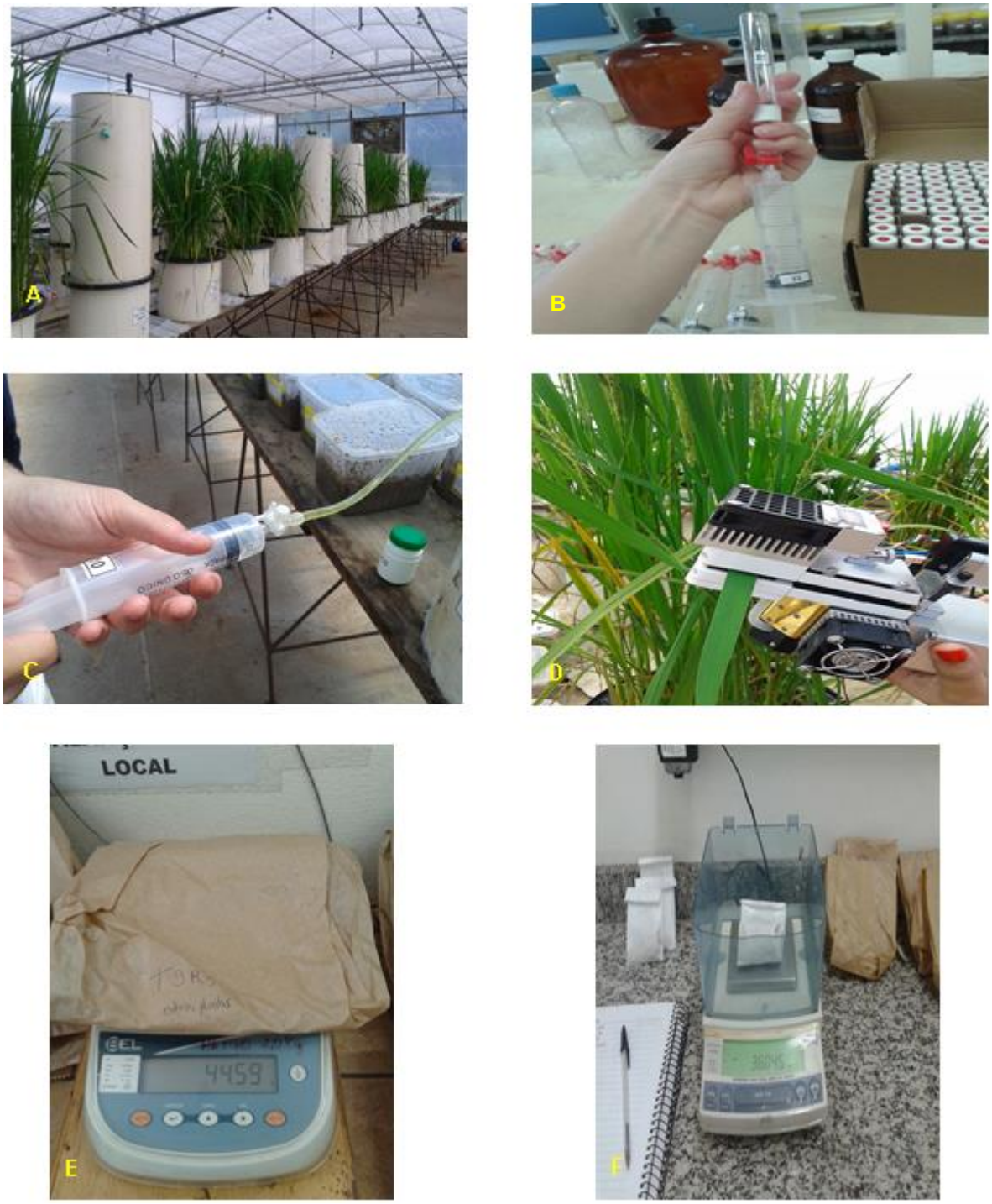



Figura 4. Etapas da condução do experimento. (A) Visão geral da coleta de gás no experimento. (B) Amostras de gás transferidas para frascos de vidro evacuados (*extainer*). (C) Coleta da solução do solo. (D) Leitura para quantificação de aspectos fisiológicos utilizando o aparelho IRGA. (E) Quantificação do aspecto agronômico "matéria seca da parte aérea. (F) Quantificação do aspecto agronômico "produtividade".