

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA
FILHO”**

FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS

Campus de Jaboticabal - Departamento De Zootecnia

**EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO COM ADITIVO FITOGÊNICO
SOBRE A EMISSÃO DE GASES DE EFEITO ESTUFA DE
EXCRETAS DE ANIMAIS EM PASTOS DE CAPIM TROPICAL**

Débora Siniscalchi

Zootecnista

Jaboticabal, SP

2020

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA
FILHO”**

FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS

Campus de Jaboticabal - Departamento De Zootecnia

**EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO COM ADITIVO FITOGÊNICO
SOBRE A EMISSÃO DE GASES DE EFEITO ESTUFA DE
EXCRETAS DE ANIMAIS EM PASTOS DE CAPIM TROPICAL**

Débora Siniscalchi

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Andrade Reis

Coorientador: Dr. Abmael da Silva Cardoso

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Campus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Zootecnia

Jaboticabal, SP

2020

S617e	Siniscalchi, Débora Efeito da suplementação com aditivo fitogênico sobre a emissão de gases de efeito estufa de excretas de animais em pastos de capim tropical / Débora Siniscalchi. -- Jaboticabal, 2020 76 p. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal Orientador: Ricardo Andrade Reis Coorientador: Abmael da Silva Cardoso 1. Aditivos fitogênicos. 2. Bovino de Corte. 3. Gases de efeito estufa. 4. Nutrição Animal. 5. Pastagens. I. Título.
-------	---

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO COM ADITIVO FITOGÊNICO SOBRE A EMISSÃO DE GASES DE EFEITO ESTUFA DE EXCRETAS DE ANIMAIS EM PASTOS DE CAPIM TROPICAL

AUTORA: DÉBORA SINISCALCHI

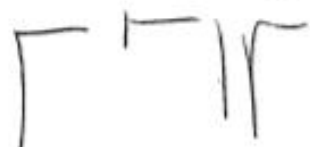
ORIENTADOR: RICARDO ANDRADE REIS

COORIENTADOR: ABMAEL DA SILVA CARDOSO

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em ZOOTECNIA, pela Comissão Examinadora:

Professor Titular RICARDO ANDRADE REIS 
Zootecnia / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - UNESP - Jaboticabal

Prof. Dr. WILTON LADEIRA DA SILVA (VIDEOCONFERÊNCIA) 
Departamento de Zootecnia-UFG / Goiânia/GO

Profa. Dra. ANA CLÁUDIA RUGGIERI 
Departamento de Zootecnia / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Jaboticabal, 28 de fevereiro de 2020

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Débora Siniscalchi – Nascida na cidade de Jaboticabal – SP, no dia 8 de junho de 1992, filha de Paulo Domingos Siniscalchi e Edna Maria Pelegrini Siniscalchi. Em março de 2008 ingressou no Colégio Técnico Agrícola "José Bonifácio" da UNESP - Campus de Jaboticabal, obtendo o título de Técnica em Agropecuária em fevereiro de 2011. Em março de 2012 ingressou no curso de Zootecnia na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias "Júlio de Mesquita Filho" – UNESP - Campus de Jaboticabal, obtendo o título de Zootecnista em janeiro de 2017. Em março de 2018 ingressou no curso de Mestrado em Zootecnia, na área de forragicultura e pastagens, na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias "Júlio de Mesquita Filho" – UNESP - Campus de Jaboticabal, sob orientação do Prof. Dr. Ricardo Andrade Reis e coorientação do Dr. Abmael da Silva Cardoso.

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), por financiar o Projeto Temático (2015/16631-5), no qual o meu projeto de pesquisa está inserido.

A Deus, Madre Paulina e Nossa Senhora por sempre estarem junto comigo, mesmo diante de tantas adversidades sempre me mantiveram de pé e firme para seguir em frente.

Aos meus avós, por sempre serem exemplos de amor, luta e carinho.

Ao Allan, que mesmo desse jeito rude sempre esteve ao meu lado em momentos bons e ruins.

Aos meus sogros, que sempre que precisei e preciso estão ao meu lado. Jamais serei capaz de expressar meus agradecimentos à tamanha generosidade e paciência.

Aos meus familiares, que mesmo longe ainda representam minha base. Amo muito todos vocês.

A Ivone, Zico, Kaneo e toda família Valfran, por sempre me acolherem e serem verdadeiros amigos.

A Larissa, Mabi e Bruninha, pela amizade duradoura.

Aos meus companheiros de trabalho do setor da FCAV, Abmael, Fiona, Caipira, Lorpa, Marina, Carol, Mariane, Andressa, Cvira, Thais, Ronyatta, Cvira, Thais, Ronyatta, Iago, Devasso, Zé, Alvair, Macumbinha, Lutti, Tiago, Belo, que sempre estiveram prontos pra me ajudar em tudo que precisei, mesmo nos momentos mais inoportunos e nas coletas mais cansativas. Sem vocês essa pesquisa não seria possível.

A todos os estagiários do setor, em especial aos que me auxiliaram nas coletas e nas análises, vocês foram demais!

Agradeço em especial aos amigos que adquiri no setor e irei levar para o resto da vida.

Ao professor Ricardo, que sempre me ajudou e esteve disponível para me atender, tirar minhas dúvidas e me corrigir. Com toda certeza evolui muito com seus ensinamentos.

Ao Abmael, que sempre, sempre me ensinou, teve paciência, foi meu amigo e me ajudou em absolutamente tudo, inclusive em momentos difíceis. Sempre serei eternamente grata.

A professora Ana Claudia, por me acolher, me escutar, ser paciente, compreensiva, sempre estar disponível e ter aceitado participar da minha qualificação.

Ao professor Wilton Ladeira da Silva, por ter aceitado participar da defesa do meu mestrado.

Agradeço também a instituição UNESP e as pessoas que nela trabalham, pelo acolhimento, ajuda, paciência e ensinamentos, em especial ao Juninho, Tiãozinho, Uanderson, Ana Paula e seu Orlando.

SUMÁRIO

Capítulo 1 – Considerações Gerais	3
1. Introdução	3
2. Revisão de literatura	5
2.1. Óxido nitroso.....	5
2.2. Metano	7
2.3. Dióxido de Carbono	8
2.4. Suplementação animal e uso de aditivos fitogênicos	10
3. Referências	13
Capítulo 2 – Uso de tanino condensado como mitigador de gases do efeito estufa na urina de bovinos	20
1. Introdução	21
2. Material e métodos	23
2.1. Caracterização do local	23
2.2. Tratamentos	23
2.3. Quantificação de N ₂ O, CO ₂ e CH ₄	24
2.4. Quantificação do N mineral.....	25
3. Delineamento experimental e análises estatísticas	26
4. Resultados e discussão	26
4.1. Emissões de N ₂ O	26
4.2. Emissões de CH ₄	28
4.3. Emissões de CO ₂	29
4.4. N mineral.....	31
5. Conclusões	32
6. Referências	33
Capítulo 3 – Efeito da suplementação com aditivo fitogênico sobre a emissão de gases de efeito estufa de excretas de bovinos	36
1. Introdução	37
2. Material e métodos	39
2.1. Localização e características da área experimental	39
2.2. Tratamentos e manejo dos animais	41
2.3. Variáveis estudadas	43

2.3.1.	Avaliação das emissões de CH ₄ e N ₂ O	43
2.3.2.	Volatilização de Amônia.....	45
2.3.3.	Parâmetros do solo e meteorológicos.....	47
2.3.4.	Análises de fezes e urina	48
3.	Delineamento experimental e análises estatísticas	51
4.	Resultados e discussão	51
4.1.	Temperatura e precipitação	52
4.2.	Emissões de N ₂ O	52
4.3.	Emissões de CH ₄	57
4.4.	Volatilização de amônia.....	61
4.5.	N mineral.....	64
5.	Conclusões	69
6.	Referências	69

EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO COM ADITIVO FITOGÊNICO SOBRE A EMIÇÃO DE GASES DE EFEITO ESTUFA DE EXCRETAS DE ANIMAIS EM PASTOS DE CAPIM TROPICAL

RESUMO - A agropecuária é uma importante fonte de renda e em especial a bovinocultura de corte é fonte de emissão de gases de efeito estufa (GEE). Emissões de GEE de excretas em pastagens têm sido estudadas objetivando determinar fatores de emissão, mas as emissões em função das estratégias de suplementação não são claras. Os objetivos deste estudo foram avaliar o uso de suplementação proteico-energética e aditivos fitogênicos em pastos tropicais na emissão de GEE provenientes de excretas de bovinos. O experimento foi conduzido no setor de Forragicultura da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, Campus de Jaboticabal, São Paulo, no período de dezembro de 2018 a maio de 2019. Um experimento em laboratório foi realizado, com intuito de estimar a produção de GEE de acordo com adições de 0, 0,5 e 1% de tanino condensado em urina de bovinos. Um segundo experimento foi realizado com bovinos da raça Nelore, em pastos de *Urochloa brizantha* cv. Marandu, com os seguintes tratamentos: suplementação proteico-energética + aditivo fitogênico (PV), suplementação proteico-energética (P), suplementação com sal mineral + aditivo fitogênico (SV) e suplementação com sal mineral (S), avaliados durante 21 semanas. As emissões de GEE foram mensuradas utilizando câmaras estáticas com adição de fezes, fezes + urina e urina dos animais dos respectivos tratamentos. A avaliação de NH_3 foi realizada com os mesmos tipos de excretas em câmara semiaberta livre estática (SALE). O delineamento utilizado foi DIC e as emissões dos gases e a volatilização de NH_3 foram submetidos a ANOVA e teste de Tukey-HSD ($p < 0,05$). No experimento em laboratório, as emissões de N_2O diferiram entre tratamentos e semanas ($p < 0,05$), apresentando emissões totais de 95,84; 265,30 e 199,32 mg $\text{N-N}_2\text{O m}^{-2}$ nos tratamentos com 0; 0,5 e 1% de tanino, respectivamente. As emissões de CH_4 diferiram entre os tratamentos e semanas ($p < 0,05$), apresentando emissões total de 8,84; 1,87 e 3,34 mg $\text{CH}_4 \text{ m}^{-2}$, respectivamente. As emissões de CO_2 diferiram entre os tratamentos e semanas ($p < 0,05$), apresentando emissões total de 3,80; 6,93 e 5,87 g $\text{CO}_2 \text{ m}^{-2}$. No segundo experimento houve diferença significativa entre emissões de N_2O das excretas dos animais recebendo suplementação ($p = 0,004$), onde as emissões em cada período e totais de P e PV foram maiores que as excretas de S e SV. As emissões totais de N_2O em relação a localização das câmaras apresentaram diferença significativa ($p = 0,015$). As câmaras localizadas mais ao centro dos piquetes emitem menos N_2O , enquanto as localizadas na região marginal emitem mais N_2O . Houve diferença significativa entre emissões de CH_4 das excretas dos animais recebendo suplementação ($p = 0,021$), sendo que as emissões totais de SV apresentaram os valores mais baixos, seguido de PV e S e o tratamento SV emitiu mais metano. A volatilização de amônia pelas excretas independe da suplementação dos animais e a volatilização de urina é maior que das fezes e fezes + urina.

Palavras-chaves: aditivos fitogênicos, excretas de bovinos, gases de efeito estufa, ruminantes, pastagens, suplementação da dieta

EFFECT OF SUPPLEMENTATION WITH PHYTOGENIC ADDITIVE ON THE EMISSION OF GREENHOUSE GASES FROM ANIMAL EXCRETE IN TROPICAL GRASS PASTURE

ABSTRACT - Agriculture is an important source of income and, in particular beef cattle is a source of greenhouse gas (GHG) emissions. GHG emissions from excreta in pastures have been studied in order to determine emission factors, but the emissions due to supplementation strategies are not clear. This study aims to evaluate the use of energy protein supplementation and, phytogenic additives in tropical pastures in the emission of GHG from bovine excreta. The experiment was conducted in the Forage sector of the Faculty of Agricultural and, Veterinary Sciences, UNESP, Jaboticabal Campus, São Paulo, from December 2018 to May 2019. A laboratory experiment was carried out in order to estimate the GHG production according to additions of 0, 0.5 and, 1% of tannin condensed in bovine urine. A second experiment was carried out with Nellore cattle, in *Urochloa brizantha* cv. Marandu, with the following treatments: protein-energy supplementation + phytogenic additive (PV), protein-energy supplementation (P), mineral salt supplementation + phytogenic additive (SV) and, mineral salt (S) supplementation, evaluated during 21 weeks. GHG emissions were measured using static chambers with the addition of feces, faeces + urine and, urine from the animals in the respective treatments. The NH_3 evaluation was carried out with the same types of excreta in a static free semi-open chamber (SALE). The design used was DIC, gas emissions and, NH_3 volatilization were submitted to ANOVA and, Tukey-HSD test ($p < 0.05$). In the laboratory experiment, N_2O emissions differed among treatments and, weeks ($p < 0.05$), with total emissions of 95.84; 265.30 and, 199.32 mg $\text{N-N}_2\text{O m}^{-2}$ in treatments with 0; 0.5 and, 1% tannin, respectively. CH_4 emissions differed between treatments and, weeks ($p < 0.05$), with total emissions of 8.84; 1.87 and, 3.34 mg $\text{CH}_4 \text{ m}^{-2}$, respectively. CO_2 emissions differed among treatments and, weeks ($p < 0.05$), with total emissions of 3.80; 6.93 and, 5.87 g $\text{CO}_2 \text{ m}^{-2}$. In the second experiment, there was a significant difference between N_2O emissions from the excreta of animals receiving supplementation ($p = 0.004$), where the emissions in each period, total P and, PV were higher than the excreta of S and, SV. The total N_2O emissions in relation to the location of the chambers showed a significant difference ($p = 0.015$). The chambers located further in the center of the paddocks emit less N_2O , while those located in the marginal region emit more N_2O . There was a significant difference among CH_4 emissions from the excreta of animals receiving supplementation ($p = 0.021$), with total SV emissions showing the lowest values, followed by PV, S and, the SV treatment emitted more methane. Ammonia volatilization by excreta does not depend on animal supplementation and urine volatilization is greater than that of faeces and, faeces + urine.

Keywords: phytogenic additives, bovine excreta, greenhouse gases, ruminants, pastures, diet supplementation

Capítulo 1 – Considerações Gerais

1. Introdução

Os principais gases de efeito estufa são o óxido nitroso (N_2O), o metano (CH_4) e o dióxido de carbono (CO_2), sendo emitidos naturalmente e por atividades antropogênicas. Dentre essas atividades, o uso do solo e a agropecuária são responsáveis por grande parte das emissões do Brasil.

Como destacado pelo Painel Brasileiro de mudanças Climáticas (PBMC), a agropecuária é responsável por 10 a 12% das emissões globais (Netz et al., 2007). Aliado a esse fato, tem-se o elevado crescimento da demanda global por alimentos nas próximas décadas (Aggarwal, 2019).

O Brasil é um dos maiores produtores de alimentos do mundo, tendo como uma das grandes fontes produtivas a carne bovina, produzindo 10,96 milhões de toneladas desta fonte de proteína animal e exportando um total equivalente, em 2019 de 1,76 milhão de toneladas de carne bovina in natura (ABIEC, 2019). Consequentemente, é também um dos países com maiores emissões de GEE, sendo em relação a área agropecuária, o segundo nas emissões, contribuindo com 418 Mt CO_2 equivalente (SEEG, 2014) emitidos no ano de 2013, representando aproximadamente um terço das emissões nacionais.

Em sistemas de pastagens o CO_2 é emitido por oxidação da matéria orgânica do solo, perdendo o carbono estocado e pela decomposição do material morto vegetal. O CH_4 é produzido durante a fermentação ruminal e emitido em maiores proporções por eructação e em menores proporções pelas fezes dos animais. O N_2O é emitido pelas excreções de fezes e urina dos animais, além da emissão proporcionada por adubação nitrogenada das pastagens.

Na COP 21 (Conferência das Partes), os representantes do Brasil assumiram a responsabilidade de participação no “Acordo de Paris”, visando reduzir até 2025 as emissões dos GEE em 37% abaixo dos níveis de 2005, com contribuição indicativa subsequente de redução das emissões de gases de efeito estufa em 43% abaixo dos níveis de 2005, até 2030. Tal proposta levará a agropecuária mundial a enfrentar

desafios na produção, devendo produzir alimentos de acordo com a demanda populacional e reduzir as emissões dos GEE (Foley et al., 2011).

Conhecimentos técnicos e científicos devem ser explorados e implantados visando minimizar emissões dos GEE relacionados a produção agropecuária. Algumas alternativas para minimizar os impactos da agropecuária e mitigação dos GEE envolvem aspectos agrônômicos do uso de pastagens são: aumentar a eficiência do uso de adubos nitrogenados, diminuindo nos teores de fibra indigestível e aumentando a proporção de folhas da planta (CARVALHO et al., 2019; DELEVATTI et al., 2019); parcelar as adubações nitrogenadas, diminuindo as perdas de N por volatilização (Ribeiro et al., (2016); uso de leguminosas como fixadoras biológicas do nitrogênio (FBN), acúmulo de carbono no solo, sistemas de integração lavoura-pecuária-floresta. Associadas as práticas agrônômicas, tem-se as estratégias relacionadas aos animais: manejo da pastagem visando reduzir a compactação do solo, aumento da taxa de lotação, qualidade dos pastos, genética animal, diminuição na idade de abate através da suplementação da dieta dos animais, uso de aditivos na alimentação, entre outros.

Uma prática alternativa para reduzir as emissões dos GEE é a suplementação proteico energética, que altera a relação de ácidos graxos de cadeia curta presentes no rúmen e diminui as perdas de CH₄ por eructação (Moss, 2000; Martin et al., 2010; Martinez et al., 2016), porém o excesso de nutrientes provenientes da dieta pode acarretar perdas que são excretadas via urina (Abdoun et al., 2006; Owens e Basalan, 2016) gerando perdas econômicas e poluição ao meio ambiente (Castillo et al., 2000).

O uso de aditivos fitogênicos na suplementação pode ser uma ferramenta para minimizar as perdas de N no metabolismo animal, agindo sobre os microrganismos de forma semelhante aos ionóforos (Kamra et al., 2006; Lillehoj et al., 2018) atuando principalmente sobre bactérias gram-positivas, CO₂ e CH₄ (Cieślak, 2013). Nós hipostenizamos que a suplementação com aditivos fitogênicos na dieta de bovinos pode minimizar as perdas de N e consequentemente diminuir as emissões de N₂O e CH₄ provenientes das excretas depositadas no solo.

A composição da dieta e o fornecimento de aditivos fitogênicos aos animais influencia características químicas e físicas do solo (Muir, 2011) e dietas com menor teor de PB contribuem com menos N para a ciclagem e fonte de nutrientes para a forragem (Powell et al., 2006), porém, ainda não foram realizados estudos a campo

relacionando o uso de aditivos fitogênicos e as emissões de GEE. Esse estudo tem como objetivo verificar se o uso de aditivos fitogênicos pode mitigar os GEE, diminuir perdas de N a partir das excretas e diminuir a volatilização de NH_3 .

2. Revisão de literatura

2.1. Oxido nitroso

O terceiro GEE com maior importância para o aquecimento global é o N_2O . É um gás atmosférico com efeito de estufa potente e duradouro, com uma vida útil de 121 anos na atmosfera e potencial de aquecimento global (PAG) de 265 vezes num horizonte de 100 anos (IPCC, 2013). As fontes predominantes de emissão de N_2O no solo são os processos biológicos de nitrificação e desnitrificação (Bouwman; Butterbach-Bahl, 2013), sendo regulados pela presença de água no solo, temperatura e teores disponíveis de C e N (amônio e nitrato), além de outras propriedades do solo, como textura, espaço poroso preenchido por água (EPPA) e pH (Rowlings et al., 2015).

Avaliações em pastagens tropicais tem demonstrado que a emissão de N_2O tem relação direta com as condições do solo, visto que solos úmidos e solos secos emitem menos N_2O do que em relação a solos compactados e solos com adição de esterco (Cardoso et al., 2017a).

A quantidade de nitrogênio (N) disponível na urina de bovinos é bem maior do que nas fezes, podendo ser mineralizado e nitrificado com mais agilidade, sendo assim, caso não absorvido pela forrageira na forma de nitrato ou amônio, podem ser perdidos através de emissões de N_2O , volatilização ou lixiviação. Cardoso et al. (2015) observaram que o N originário da urina é mineralizado ou nitrificado basicamente nos primeiros três dias após adição de excretas, enquanto o N originário das fezes demora mais para ser mineralizado e nitrificado, ocorrendo em até sete dias.

Além da emissão de N_2O , ainda tem-se as perdas de nitrogênio por volatilização na forma de amônia (NH_3). Mais de 50% do N aplicado pode ser perdido na forma de NH_3 (Rochette et al., 2009). Alguns fatores que podem afetar a produção

de NH_3 são: umidade do solo, forma de aplicação do fertilizante, tipo de fertilizante, pH e composição do solo. Para que ocorra melhor aproveitamento do fertilizante, a presença de umidade é indispensável, facilitando a hidrólise da ureia.

O N_2O é produzido no solo durante as reações de nitrificação e desnitrificação. A nitrificação, requer condições aeróbicas e depende da presença de NH_4^+ , fornecido pelas bactérias autotróficas, enquanto a desnitrificação é executada por bactérias anaeróbicas. As bactérias nitrificantes autotróficas oxidam NH_3^- e/ou NH_4^+ em NO_2^- e em seguida em NO_3^- . Posteriormente, as bactérias desnitrificantes utilizam o NO_2^- e o NO_3^- como receptores de elétrons, oxidando os compostos a NO , N_2O e N_2 . Tais reações ocorrem em resposta as adubações, como também pela deposição de urina e fezes nas pastagens.

Estudos realizados recentemente por Correa et al. (2018) em forragens de capim marandu demonstraram que tanto a fonte quanto as doses de adubação interferem nas perdas de N na forma de NH_3 , onde as perdas por volatilização de NH_3 foram 3,53%, 4,30% e 27,62% do N aplicado, respectivamente, quando se aplicaram o sulfato de amônio, nitrato de amônio e ureia. Já em relação as doses de N aplicadas, as perdas ocorreram linearmente de 6,05% até 19,18% do N aplicado, quando variaram as doses de 90 a 270 kg N ha^{-1} .

No Brasil, 64% das emissões de N_2O são originadas da agropecuária, onde 41% são representadas por N excretado por animais em pastagens (MCTI, 2014). Algumas alternativas para mitigar a liberação de N_2O nos sistemas de produção pecuária são melhorias no manejo do solo e das pastagens, limitando a quantidade de fertilizantes nitrogenados e manejo alimentar dos animais, com função de diminuir a quantidade de N excretada na urina através da suplementação com alimentos com baixa disponibilidade de N e alta energia com vistas a aumentar a síntese de proteína microbiana, elaboração de dietas com a quantidade adequada de nutrientes de acordo com as exigências dos animais, ou uso de aditivos da dieta que evitem as perdas de N, melhorar o desempenho animal para reduzir a idade de abate também pode contribuir para a redução de emissões de N_2O .

Poucas substâncias são capazes de mitigar a emissão de N_2O . De acordo com Zhao (2017) e Yang et al., (2016), os taninos podem alterar a relação de N excretado via fezes e urina e atuar sobre microrganismo, além de apresentam potencial para mitigar as emissões de N_2O . Os taninos podem complexar com as frações solúveis da

proteína, propiciando diminuição na degradação ruminal, e consequentemente aumento na proteína metabolizável, diminuindo as perdas de N via urina. O complexo tanino-proteína poderá ser hidrolisado no abomaso, permitindo a digestão da proteína bruta (PB), absorção de aminoácidos no intestino (Min et al., 2003), e aumento da síntese de proteína microbiana (Makkar, 2003). Porém, essa hipótese ainda não foi avaliada em condições tropicais.

2.2. Metano

O CH₄ é o segundo maior contribuinte para o aquecimento global, apresentando potencial de aquecimento global (PAG) 28 vezes maior que o CO₂ e tempo de vida na atmosfera de 9 a 15 anos, com taxa de crescimento anual de 7,0% (IPCC, 2013), onde 74,5% do total de CH₄ emitido no Brasil é proveniente da agropecuária.

O CH₄ produzido em sistemas de criação de bovinos origina-se, principalmente, da fermentação entérica (85 a 90%), sendo o restante produzido a partir dos dejetos destes animais. Em condições anaeróbias é produzido por microrganismos metanogênicos presentes no ambiente ruminal e tem dependência direta da ingestão de alimentos e fermentação ruminal, onde dietas de menor qualidade nutricional, principalmente as ricas em fibra, como as forragens, e com menores teores de carboidratos não fibrosos resultam em maiores emissões (Waghorn et al., 2011).

Os microrganismos ruminais (bactérias, protozoários e fungos) hidrolisam o amido proveniente da dieta e os polissacarídeos da parede celular vegetal, produzindo açúcares, AGCC (ácidos graxos de cadeia curta), CO₂ e H₂. Os açúcares e proteínas são então fermentados por microrganismos secundários formando os AGCC, amônia, H₂ e CO₂. Desta forma, os microrganismos removem o H₂ do rúmen e reduzem o CO₂ para formar CH₄ (Zotti et al., 2009). A produção CH₄ pelos microrganismos metanogênicos tem como consequência a manutenção de baixos níveis de H₂ no rúmen, favorecendo crescimento de outras espécies bacterianas, tornando a fermentação mais eficiente, pois possibilita o ajuste do pH ruminal nos valores próximos a neutralidade.

Os AGCC formados durante a fermentação ruminal não são equivalentes em termos de liberação de hidrogênio (H_2). A produção de acetato e butirato são predominantes durante a fermentação de carboidratos fibrosos, resultando na liberação de H_2 no rúmen e favorecendo a metanogênese. Já a formação de propionato, decorrente da degradação de carboidratos não fibrosos é uma via competitiva de utilização de H_2 no rúmen, reduzindo a disponibilidade de substrato para a metanogênese. Assim, a produção de CH_4 , depende do balanço de H_2 no rúmen, sendo influenciada pelas taxas de produção de acetato e propionato (McAllister et al., 2008).

A produção de CH_4 pelas fezes dos animais ocorre por fermentação, onde o material orgânico é biologicamente degradado a CH_4 , CO_2 e frações de H_2 , N_2 e sulfeto de hidrogênio (H_2S). Quando depositadas no solo, as fezes criam um microambiente caracterizado por temperatura e umidade elevadas, proporcionando um ambiente favorável para microrganismos anaeróbicos produzirem o CH_4 . A composição, quantidade e disponibilidade do C e N, podem influenciar a atividade microbiana. A emissão de CH_4 também é controlada pela umidade do solo, pluviosidade e temperatura do ar e do solo (Bolan et al., 2004).

O valor padrão para o fator de emissão dos dejetos do gado é de 2% (IPCC (2013), porém, esse é um valor médio estabelecido para aplicação em escala global, havendo grandes incertezas associadas a esse valor, visto que a maior parte dos estudos relacionados a essas emissões foram realizadas em regiões de clima temperado. Cardoso et al. (2013), ao realizarem estudos em pastagens de clima tropical sobre as emissões provenientes de urina, urina + fezes e fezes, verificaram valores de emissão de CH_4 em períodos chuvosos, inferiores aos preditos pelo IPCC. Outro estudo realizado por Cardoso et al. (2017b) evidência que a umidade, compactação do solo e, principalmente adição de fezes proporcionam maiores emissões de CH_4 , além disso, o volume urinário não interfere em mudanças dos fluxos de CH_4 e solos secos proporcionam oxidação, diminuindo as emissões.

2.3. Dióxido de Carbono

O CO₂ é o gás que tem maior contribuição para o aquecimento global, representando mais de 70% das emissões de GEE e o seu tempo de permanência é de no mínimo cem anos, resultando em impactos no clima ao longo de séculos.

No Brasil, as mudanças do uso do solo, o desmatamento e a agropecuária são responsáveis pela maior parte das emissões, pois as áreas de florestas e ecossistemas naturais são grandes reservatórios de carbono, por capacidade de absorção e estoque de CO₂ (Galford, et al., 2013).

Em sistemas de pastagens o CO₂ é emitido por oxidação da matéria orgânica do solo, perdendo o carbono estocado. As emissões de dióxido de carbono são processos determinados por características do solo, respiração das raízes, umidade, temperatura, pH, substrato, atividades microbianas, entre outros fatores. A deposição de dejetos no solo pode alterar significativamente as condições do solo, proporcionando deposição de carbono, alterando os microrganismos, estimulando a decomposição, modificando a disponibilidade de nutrientes e, conseqüentemente alterando a produção de CO₂ (Singh et al., 2010; Tian et al., 2016; He et al., 2016).

Alguns estudos têm sido realizados visando verificar as emissões de CO₂ a partir da degradação das pastagens. Traoré et al. (2015) observaram emissões de 82% a mais de CO₂ em pastagens degradadas em comparação a pastagens não degradadas na África Ocidental semi-árida. Rey et al. (2011) em um estudo realizado no Sudeste da Espanha verificaram que pastagens degradadas emitem 25% a mais de CO₂ que pastagens não degradadas, Chen et al. (2016), em estudo realizado na China, relataram fluxos anuais de CO₂ de 23,6% em solos degradados em comparação com solos não degradados.

Brito et al. (2015) em estudo realizado durante dois anos, correlacionaram as temperaturas do solo, precipitação e manejo em diferentes alturas de pastejo em capim marandu (15cm, 25cm e 35cm) e observaram que as emissões de CO₂ estão diretamente relacionadas com temperatura do solo e pluviosidade, além de a produção de CO₂ ser maior no verão e menor no inverno e observarem que com o aumento da altura do pasto, a produção de CO₂ foi menor.

Pesquisas relacionadas as emissões de dióxido de carbono provenientes das fezes e urinas dos animais são escassas, principalmente quando se diz respeito a diferentes formas de suplementação da dieta animal.

2.4. Suplementação animal e uso de aditivos fitogênicos

O uso de aditivos pode melhorar o aproveitamento dos nutrientes consumidos pelos animais e consequentemente aumentar o ganho de peso e diminuir as perdas a partir da produção de dejetos. A suplementação animal e uso de aditivos na alimentação de ruminantes tem efeito positivo no ganho de peso animal e no controle das emissões dos gases efeito estufa gerados pela agropecuária (Da Silva et al., 2017). Alguns aditivos, como o tanino, têm capacidade de se ligar as proteínas verdadeiras e protegê-las da degradação ruminal, diminuindo o N amoniacal proporcionado pela degradação ruminal. Desta forma, tem-se o aumento dos fluxos de proteína bruta para o intestino, onde a digestão desta fração do alimento e absorção de aminoácidos ocorre mais intensamente. Tais condições resultam em melhor aproveitamento da proteína proveniente da dieta, ocorrendo máxima síntese de proteína microbiana no rúmen, resultando em menores excreções via urina (Makkar, 2003).

Dentre as estratégias para mitigação das emissões dos GEE, destaca-se o uso de alimentos concentrados na suplementação de animais a pasto, objetivando fornecer nutrientes que não são supridos pelo consumo de forragem (Reis et al., 2009). Além de elevarem a produção de propionato ruminal, com impacto direto sobre a redução da emissão de CH₄, podem aumentar o desempenho animal, aumentando a capacidade suporte dos pastos, possibilitam abate precoce dos animais, refletindo em maior produtividade por área, e consequentemente reduzindo as emissões de CH₄ totais durante a vida do animal, e por kg de carne produzida, além de evitar a degradação de pastagens.

Um dos nutrientes mais importantes no sistema de produção a pasto é o nitrogênio, determinando a necessidade de suplementação a ser realizada. O N aplicado nas pastagens, durante as adubações, retorna ao sistema via conteúdo de compostos nitrogenados, dentre eles a proteína bruta (PB) da forragem, influenciando no desempenho animal. Contudo, há situações que o pasto não atende às exigências de proteína e energia para máximo ganho de peso, havendo desequilíbrio na relação proteína/energia que maximize a síntese de proteína microbiana ruminal, e podendo ainda não atingir os teores mínimos de 6,0 a 7,0% de PB na dieta, o que garante a

eficiente da degradação da fração fibrosa da forragem (Reis et al., 2017). Por outro lado, existem situações onde o teor de PB da forragem ultrapassa os 12% exigidos pela maioria das categorias de bovinos de corte e nestas situações uma suplementação energética poderá otimizar o ganho de peso (Koscheck et al., 2020).

Uma alternativa para a redução na idade de abate e mitigação dos impactos ambientais é a adição de compostos fitogênicos, como o tanino, na alimentação animal. De acordo com Guimarães-Beelen et al., (2006), Patra et al., (2011) e Neubauer et al., (2018) os aditivos fitogênicos atuam sobre as bactérias gram-positivas, afetando diretamente a produção de ácido acético e butírico, além de amônia, dióxido de carbono, lactato e metano.

Os taninos são compostos polifenólicos encontrados em diversas plantas, subdivididos em tanino condensado (TC) e taninos hidrolisável (TH). Os TC possuem moléculas resistentes a fragmentação, com estruturas poliméricas flavan-3-ol e/ou flavan-3,4-diol com alta capacidade de se ligarem a proteínas, podendo diminuir a degradabilidade da proteína no rúmen (Waghorn, 2008) e diminuir as emissões de CH₄ (Carulla et al., 2005 ; Grainger et al., 2009). Já os taninos hidrolisáveis são moléculas menores de ácidos fenólicos e suas ligações ésteres podem sofrer hidrólise por ácidos ou enzimas. Em comparação com o TC, os TH têm ligações mais fracas com proteínas, sendo mais facilmente absorvidos no trato digestivo e consequentemente tendo um potencial de toxicidade maior para os animais (Beauchemin et al., 2008; Mueller Harvey, 2006), porém agem diretamente na população de microrganismos metanogênicos (Jayanegara et al., 2015).

A concentração de tanino adequada em dietas de ruminantes ainda é bastante variada, visto que, além dos diferentes tipos de tanino (TC e TH), ainda existem diversas fontes e o tanino adicionado a dieta pode conter proporções variadas de TC e TH. Jayanegara et al. (2012) em um estudo de metanálise com intuito de verificar o potencial de mitigação de CH₄, avaliou 30 experimentos, compreendendo 171 tratamentos, onde as doses de tanino variaram de 0 a 250 g kg⁻¹ MS. Foi observado que a mitigação de CH₄ ocorre quando as doses de tanino são maiores que 20 g kg⁻¹ MS. Quanto a toxicidade, valores acima de 50 g kg⁻¹ MS podem causar irritação e descamação da mucosa intestinal, lesões do fígado e nos rins, úlceras e até morte (Reed, 1995), porém, vale salientar que as propriedades antinutricionais e a toxicidade

dos taninos são atribuídos principalmente à ingestão de altas concentrações de TH devido à sua menor adsorção as proteína e liberação de metabólitos no rúmen.

Valores acima de 50 g kg⁻¹ MS de tanino também podem ocasionar diminuições no consumo, no ganho de peso e conseqüentemente limitações no aproveitamento dos alimentos (Kahiya et al., 2003; Athanasiadou et al., 2001).

O uso de taninos na alimentação de ruminantes tem efeito positivo no ganho de peso animal, controle de parasitos gastrointestinais e no controle dos gases efeito estufa gerados pela agropecuária (Da Silva et al., 2017). Francisco et al., (2015) e Morales et al., (2015) relataram que as propriedades antimicrobianas dos taninos podem manipular a atividade microbiana ruminal em direções favoráveis, como por exemplo, retardar a digestão de proteínas, aumentar a síntese de proteína microbiana, diminuir produção de CH₄ e evitar timpanismo. O tanino apresenta função “by-pass”, tendo capacidade de se ligar as proteínas verdadeiras e protegê-las da degradação ruminal, diminuindo o N amoniacal proporcionado pela degradação e aumentando os fluxos de proteína bruta para o intestino, onde a digestão desta fração do alimento e absorção de aminoácidos ocorre mais intensamente. Tais condições resultam em melhor aproveitamento da proteína proveniente da dieta, ocorrendo máxima síntese de proteína microbiana no rúmen (Sliwinski et al., 2002; Makkar, 2003) e redução na produção de metano entérico por unidade de matéria seca ingerida (Scalbert, 1991; Woodward et al., 2001).

Melhores aproveitamentos de N pelo organismo animal possibilitam diminuição na liberação de N na urina, sendo a maior parte de N direcionado para a produção fecal caso não tenha sido digerido e absorvido. Essas fezes compostas por proteína ligada ao tanino, tem liberação de N para o solo mais lenta, mantendo a fertilidade das pastagens por períodos mais prolongados e disponibilizando N em quantidades absorvíveis pela planta, evitando perdas por lixiviação e volatilização na forma de NH₃.

Experimentos relacionados a suplementação e a adição de tanino em dietas de ruminantes, demonstram grandes benefícios, porém, principalmente em relação a animais em pastagens tropicais, quanto a produção de GEE no solo, as informações são escassas, enfatizando a importância desse estudo que visa obter informações da produção de CH₄ e N₂O a partir da suplementação e uso de tanino em dietas, demonstrando potencial de mitigação. Este estudo é de uma estratégia importante não só para a melhoria da produtividade, mas também do meio ambiente.

3. Referências

ABDOUN, K., STUMPF, F., MARTENS, H. Ammonia and urea transport across the rumen epithelium: a review. **Animal Health Research Reviews**, 7(1-2), 43-59, 2006.

ABIEC – Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carnes. 2019. Beef Report 2019. Disponível em: <http://www.abiec.com.br/control/uploads/arquivos/sumario2019portugues.pdf>. Acesso em 17 jan de 2020.

AGGARWAL, S. Food and climate change. **Jindal Global Law Review**, 10(1), 121-127, 2019.

ATHANASIADOU, S.; KYRIAZAKIS, I.; JACKSON, F.; COOP, R. L. Direct anthelmintic effects of condensed tannins towards different gastrointestinal nematodes of sheep: in vitro and in vivo studies. **Veterinary Parasitology**, v.99, n.3, p.205-19, 2001.

BEAUCHEMIN, K. A., KREUZER, M., O'MARA, F., & MCALLISTER, T. A. Nutritional management for enteric methane abatement: a review. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v. 48, n. 2, p. 21-27, 2008.

BOLAN, N. S.; SAGGAR, S.; LUO, J.; BHANDRAL, R.; SINGH, J. Gaseous emissions of nitrogen from grazed pastures: processes, measurements and modeling, environmental implications, and mitigation. **Advances in agronomy**, v. 84, n. 37, p. 120, 2004.

BOUWMAN, A. F.; BEUSEN, A. H. W.; GRIFFIOEN, J.; VAN GROENIGEN, J. W.; HEFTING, M. M.; OENEMA, O.; VAN PUIJENBROEK, P. J. T. M.; STEHFEST, S.; SLOMP, C. P.; STEHFEST, E. Global trends and uncertainties in terrestrial denitrification and N₂O emissions. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, v. 368, n. 1621, p. 20130112, 2013.

BRITO, L. F., AZENHA, M. V., JANUSCKIEWICZ, E. R., CARDOSO, A. S., MORGADO, E. S., MALHEIROS, E. B., REIS, R. A. & RUGGIERI, A. C. Seasonal fluctuation of soil carbon dioxide emission in differently managed pastures. **Agronomy Journal**, 107(3), 957-962, 2015.

BUTTERBACH-BAHL, Klaus et al. Nitrous oxide emissions from soils: how well do we understand the processes and their controls?. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, v. 368, n. 1621, p. 20130122, 2013.

CARDOSO, A. S.; JANUSCKIEWICZ, E. R.; OLIVEIRA, S. C.; BRITO, L. F.; MORGADO, E. S.; RUGGIERI, A. C. Emissão de metano por excretas de bovinas em pastagens de capim-marandú durante o verão. XXXIV Congresso Brasileiro de Ciência do Solo, 2013, Florianópolis-SC. **Anais do XXXIV Congresso Brasileiro de Ciência do Solo**, v.1. 2013.

CARDOSO, A. S.; OLIVEIRA, S. C.; BRITO, L. F.; JANUSCKIEWICZ, E. R.; MORGADO, E. S.; RUGGIERI, A. C. Mineralização e nitrificação do nitrogênio no solo

sob pastagem após deposição de excretas bovinas e fertilizante ureia. XXXV Congresso Brasileiro de Ciência do Solo, 2015, Natal. **Anais do XXXV Congresso Brasileiro de Ciência do Solo**, 2015.

CARDOSO, A. S.; QUINTANA, B. G.; JANUSCKIEWICZ, E. R. ; BRITO, L. F.; MORGADO, E. S. ; REIS, R. A. ; RUGGIERI, A. C. N₂O emissions from urine-treated tropical soil: Effects of soil moisture and compaction, urine composition, and dung addition. **Catena**, v. 157, p. 325-332, 2017a.

CARDOSO, A. S.; SINISCALCHI, D.; JANUSCKIEWICZ, E. R.; BRITO, L. F.; MORGADO, E. S.; RUGGIERI, A. C. How do methane rates vary with soil moisture in a tropical soil? **VII Congresso Brasileiro de Biometeorologia, Ambiente, Comportamento e Bem-Estar Animal: Responsabilidade Ambiental e Inovação**, 2017, Jaboticabal. Funep, v.1. p.1. 2017b.

CARULLA, J. E., M. KREUZER, A. MACHMÜLLER, AND H. D. HESS. Supplementation of *Acacia mearnsii* tannins decreases methanogenesis and urinary nitrogen in forage-fed sheep. **Australian journal of agricultural research**. 56:961–970. 2005.

CARVALHO, Z. G.; SALES, E. C. J. D.; MONÇÃO, F. P.; VIANNA, M. C. M.; SILVA, E. A.; QUEIROZ, D. S. Morphogenic, structural, productive and bromatological characteristics of *Braquiária* in silvopastoral system under nitrogen doses. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, 41. 2019.

CASTILLO, A.R.; KEBREAB, E.; BEEVER, D.E. et al. Review of efficiency of nitrogen utilisation in dairy cows and its relationship with the environmental pollution. **Journal of Animal and Feed Sciences**, v.9, p.1-32, 2000.

CHEN, J., ZHOU, X., WANG, J., HRUSKA, T., SHI, W., CAO, J., ZHANG, B., XU, G., CHEN, Y., LUO, Y. Grazing exclusion reduced soil respiration but increased its temperature sensitivity in a Meadow Grassland on the Tibetan Plateau. **Ecology and evolution**, v. 6, n. 3, p. 675-687, 2016.

CIEŚLAK, A. et al. Plant components with specific activities against rumen methanogens. **Animal** 7(2): 253–265, 2013.

CORRÊA, D. C. C.; CARDOSO, A.; SOUZA, N.; TONIELLO, A.; REIS, R. A.; RUGGIERI, A. C. Effect of nitrogen source and level on ammonia volatilization in marandu-grass pasturelands. In: II **Conferência Internacional sobre Forragens**, Lavras, Minas Gerais, Brasil. 2018.

DA SILVA CARREGA, CORREIA, M. F.; DANTAS, A. Metano ruminal e o uso de taninos condensados como estratégia de mitigação. **Nucleus Animalium**, v. 9, n. 1, p. 51-64, 2017.

DELEVATTI, L. M., CARDOSO, A. S., BARBERO, R. P., LEITE, R. G., ROMANZINI, E. P., RUGGIERI, A. C., & REIS, R. A. Effect of nitrogen application rate on yield, forage quality, and animal performance in a tropical pasture. **Scientific reports**, 9(1), 7596. 2019.

FOLEY, J. A., RAMANKUTTY, N., BRAUMAN, K. A., CASSIDY, E. S., GERBER, J. S., JOHNSTON, M., MUELLER, N. D., CONNELL, C.O., RAY, D. K., WEST, P. C., BALZER, C., BENNETT, E. M., CARPENTER, S. R., HILL, J., MONFREDA, C., POLASKY, S., ROCKSTRÖM, J., SHEEHAN, J., SIEBERT, S., TILMAN, D., ZAKS, D. P. M. Solutions for a cultivated planet. **Nature**, 478, 7369, 337, 2011.

FRANCISCO, A., DENTINHO, M.T., ALVES, S.P., FERNANDES, F., SENGO, S., JERÓNIMO, E., OLIVEIRA, M.A., COSTA P., SEQUEIRA A., BESSA R.J.B., SANTOS-SILVA J. Growth performance, carcass and meat quality of lambs supplemented with increasing levels of a tanniferous bush (*Cistus ladanifer* L.) and vegetable oils. **Meat Science**, 100, 275-282, 2015.

GALFORD, G. L., MELILLO, J. M., KICKLIGHTER, D. W., CRONIN, T. W., CERRI, C. E., MUSTARD, J. F., & CERRI, C. C. Greenhouse gas emissions from alternative futures of deforestation and agricultural management in the southern Amazon. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 107, n. 46, p. 19649-19654, 2010.

GRAINGER, C., CLARKE, T., AULDIST, M. J., BEAUCHEMIN, K. A., MCGINN, S. M., WAGHORN, G. C., & ECKARD, R. J. Potential use of *Acacia mearnsii* condensed tannins to reduce methane emissions and nitrogen excretion from grazing dairy cows. **Canadian Journal of Animal Science**, 89(2), 241-251. 2009.

GUIMARÃES-BEELLEN, P.M., BERCHIELLI, T.T., BUDDINGTON, R., BEELLEN, R. Efeito dos taninos condensados de forrageiras nativas do semi-árido nordestino sobre o crescimento e atividade celulolítica de *Ruminococcus flavefaciens* FD1. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 58, 910-917, 2006.

HE, P., WAN, S. Z., FANG, X. M., WANG, F. C., & CHEN, F. Sexogenous nutrients and carbon resource change the responses of soil organic matter decomposition and nitrogen immobilization to nitrogen deposition. **Scientific reports**, v. 6, p. 23717, 2016.

IPCC, International Panel on Climate Change (2013). The physical science basis. Contribution of working group I to the fifth assessment report of the intergovernmental panel on climate change. In T. F. Stocker, D. Qin, G. K. Plattner, M. Tignor, S. K. Allen, J. Boschung, P. M. Midgley (Eds.), **Climate change 2013**. 1– 29, 2013.

JAYANEGARA, A., GOEL, G., MAKKAR, H. P., & BECKER, K. Divergence between purified hydrolysable and condensed tannin effects on methane emission, rumen fermentation and microbial population in vitro. **Animal Feed Science and Technology**, 209, 60-68, 2015.

JAYANEGARA, A.; LEIBER, F.; KREUZER, M. Meta-analysis of the relationship between dietary tannin level and methane formation in ruminants from in vivo and in vitro experiments. **Journal of animal physiology and animal nutrition**, v. 96, n. 3, p. 365-375, 2012.

KAHIYA, C.; MUKARATIRWA, S.; THAMSBORG, S.M. Effects of *Acacia nictitica* and *Acacia karoo* diets on *Haemonchus contortus* infection in goats. **Veterinary Parasitology**, v.115, n.3, p.265-74, 2003.

KAMRA, D. N.; AGARWAL, N.; CHAUDHARY, L. C. Inhibition of ruminal methanogenesis by tropical plants containing secondary compounds. **International Congress Series** 1293, p. 156-163, 2006.

KOSCHECK, J. F. W., ROMANZINI, E. P., BARBERO, R. P., DELEVATTI, L. M., FERRARI, A. C., MULLINIKS, J. T., MOUSQUER C. J., BERCHIELLI, T. T., REIS, R. A. How do animal performance and methane emissions vary with forage management intensification and supplementation? **Animal Production Science**, p.1-29, 2020.

LILLEHOJ, H., LIU, Y., CALSAMIGLIA, S., FERNANDEZ-MIYAKAWA, M. E., CHI, F., CRAVENS, R. L., GAY, C. G. Phytochemicals as antibiotic alternatives to promote growth and enhance host health. **Veterinary research**, v. 49, n. 1, p. 76, 2018.

MAKKAR, H.P.S. Effect and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. **Small Ruminant Research**, v.49, p.241-256, 2003.

MARTIN, C., MORGAVI, D., & DOREAU, M. Methane mitigation in ruminants: from microbe to the farm scale. **Animal**, v. 4, n. 3, p. 351-365, 2010.

MARTINEZ-FERNANDEZ, G., DENMAN, S. E., YANG, C., CHEUNG, J., MITSUMORI, M., & MCSWEENEY, C. S. Methane inhibition alters the microbial community, hydrogen flow, and fermentation response in the rumen of cattle. **Frontiers In Microbiology**, v. 7, p. 1122, 2016.

MCALLISTER, T. A.; NEWBOLD, C. J. Redirecting rumen fermentation to reduce methanogenesis. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v. 48, n. 2, p. 7-13, 2008.

MCTI. Estimativas anuais de emissões de gases de efeito estufa - 2a edição. **Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovação e Comunicações**, Brasília, 2014.

MIN, B.R.; BARRY, T.N.; ATTWOOD, G.T.; McNABB, W. C. The effect of condensed tannins on the nutrition and health of ruminants fed fresh temperate forages: a review. **Animal Feed Science and Technology**, v.106, p.3-19, 2003.

MORALES, R., UNGERFELD, E.M. Use of tannins to improve fatty acids profile of meat and milk quality in ruminants: a review. **Chilean Journal of Agricultural Research**, 75, 239—248, 2015.

MOSS, Angela R.; JOUANY, Jean-Pierre; NEWBOLD, John. Methane production by ruminants: its contribution to global warming. In: Annales de zootechnie. **EDP Sciences**, p. 231-253, 2000.

MUELLER HARVEY, I. Unravelling the conundrum of tannins in animal nutrition and health. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 86, n. 13, p. 2010-2037, 2006.

MUIR, J. P. The multi-faceted role of condensed tannins in the goat ecosystem. **Small Ruminant Research**, v. 98, p.115–120, 2011.

NETZ, B., DAVIDSON, O. R., BOSCH, P. R., DAVE, R., & MEYER, L. A. Climate change 2007: Mitigation. Contribution of Working Group III to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Summary for Policymakers. Climate change 2007: Mitigation. Contribution of Working Group III to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental **Panel on Climate Change**. Summary for Policymakers, 2007.

NEUBAUER, V., PETRI, R., HUMER, E., KROGER, I., MANN, E., REISINGER, N., WAGNER, M., ZEBELI, Q. "High-grain diets supplemented with phytogetic compounds or autolyzed yeast modulate ruminal bacterial community and fermentation in dry cows." **Journal of dairy science** 101.3, 2335-2349, 2018.

OWENS, F. N., BASALAN, M. Ruminal fermentation. In Rumenology (pp. 63-102). **Springer, Cham**. 2016.

PATRA, A. K.; SAXENA, J. Exploitation of dietary tannins to improve rumen metabolism and ruminant nutrition. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.91, p.24-37, 2011.

PBMC – Painel Brasileiro de Mudanças Climáticas. Base Científica das Mudanças Climáticas. Contribuição do Grupo de Trabalho 1 do Painel Brasileiro de Mudanças Climáticas ao Primeiro Relatório de Avaliação Nacional sobre Mudanças Climáticas. organização de t. Ambrizzi & M. Araujo. Rio de janeiro, Coppe/universidade federal do Rio de janeiro, 2013.

POWELL, J.M.; WATTIAUX, M.A.; BRODERICK, G.A.; MOREIRA, V.R.; CASLER, M.D. Dairy diet impacts on fecal chemical properties and nitrogen cycling in soils. **Soil Science**, v.70, p.786–794, 2006.

REED, Jess D. Nutritional toxicology of tannins and related polyphenols in forage legumes. **Journal of animal science**, v. 73, n. 5, p. 1516-1528, 1995.

REIS, R. A., RUGGIERI, A. C., CASAGRANDE, D. R., & PÁSCOA, A. G. Suplementação da dieta de bovinos de corte como estratégia do manejo das pastagens. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 147-159, 2009.

REIS, R. A.; ROMANZINI, E. P.; BARBERO, R. P. A Suplementação como ferramenta no ajuste da taxa de lotação. In: Encontro dos encontros da Scot Consultoria, 2017, Ribeirão Preto. **Anais do Encontro dos encontros da Scot Consultoria**. São Carlos: Suprema, v. 1. p. 165-175. 2017.

REY, A., PEGORARO, E., OYONARTE, C., WERE, A., ESCRIBANO, P., & RAIMUNDO, J. Impact of land degradation on soil respiration in a steppe (*Stipa*

tenacissima L.) semi-arid ecosystem in the SE of Spain. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 43, n. 2, p. 393-403, 2011.

RIBEIRO, V. J.; ANDRADE, F. V.; DE SOUZA, C. H. E.; SA MENDONCA, E. Volatilization of ammonia in stabilized slow-release nitrogen fertilizer under controlled conditions. **Australian Journal of Crop Science**, 10(6), 793. 2016.

ROCHETTE, P.; ANGERS, D.; CHANTINI, M.H.; MacDONALD, J.D.; GASSER, M. O.; BERTRAND, N. Reducing ammonia volatilization in a no-till soil by incorporating urea and pig slurry in shallow bands. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, v. 84, n. 1, p. 71-80, 2009.

ROWLINGS, D. W.; GRACE, P. R.; SCHEER, C.; LIU, S. Rainfall variability drives interannual variation in N₂O emissions from a humid, subtropical pasture. **Science of The Total Environment**, v. 512, p. 8-18, 2015.

SINGH, B. K., BARDGETT, R. D., SMITH, P., & REAY, D. S. SINGH, BRAJESH K. Microorganisms and climate change: terrestrial feedbacks and mitigation options. **Nature Reviews Microbiology**, v. 8, n. 11, p. 779-790, 2010.

SCALBERT, A. Antimicrobial properties of tannins. **Phytochemistry**, v.30, p.3875-3883, 1991.

SEEG - Sistema de Estimativa de Emissões de Gases de Efeito Estufa – Mudança de Uso da Terra. Observatorio do Clima, 2014.

SLIWINSKI, B.J.; SOLIVA, C.R.; MACHMÜLLER, K.M. Efficacy of plant extracts rich in secondary constituents to modify rumen fermentation. **Animal Feed Science and Technology**, v.101, p.101-114, 2002.

TIAN, Q., HE, H., CHENG, W., BAI, Z., WANG, Y., & ZHANG, X. Factors controlling soil organic carbon stability along a temperate forest altitudinal gradient. **Scientific Reports**, v. 6, n. 1, p. 1-9, 2016.

TRAORÉ, S., OUATTARA, K., ILSTEDT, U., SCHMIDT, M., THIOMBIANO, A., MALMER, A., & NYBERG, G. Effect of land degradation on carbon and nitrogen pools in two soil types of a semi-arid landscape in West Africa. **Geoderma**, v. 241, p. 330-338, 2015.

WAGHORN, G. C. Beneficial and detrimental effects of dietary condensed tannins for sustainable sheep and goat production – progress and challenges. **Anim. Feed Sci. Technol.** 147:116–139. 2008.

WAGHORN, G. C.; HEGARTY, R. S. Lowering ruminant methane emissions through improved feed conversion efficiency. **Animal Feed Science and Technology**, v. 166, p. 291-301, 2011.

WOODWARD, S.L.; WAGHORN, G.C.; ULYATT, M.J.; LASSEY, K.R. Early indications that feeding Lotus will reduce methane emissions from ruminants. **New Zealand Society of Animal Production**, p.23-26, 2001.

YANG, K., WEI, C., ZHAO, G. Y., XU, Z. W., & LIN, S. X. Dietary supplementation of tannic acid modulates nitrogen excretion pattern and urinary nitrogenous constituents of beef cattle. **Livestock Science**, 191, 148– 152, 2016.

ZHAO, G. Y. Modulation of protein metabolism to mitigate nitrous oxide (N₂O) emission from excreta of livestock. **Current Protein and Peptide Science**, 18, 525– 531, 2017.

ZOTTI, C. A.; PAULINO, V. T. Metano na produção animal: Emissão e minimização de seu impacto. **Ecologia de Pastagens, Curso de Pós-graduação em Produção Animal Sustentável**. v. 10, n. 07, p. 2016, 2009.

Capítulo 2 – Uso de tanino condensado como mitigador de gases do efeito estufa na urina de bovinos

RESUMO - Os principais GEE são o CO₂, CH₄ e N₂O. Dentre as atividades antropogênicas que intensificam as mudanças climáticas, está a agropecuária. Algumas alternativas para diminuir o aquecimento global na agropecuária são: melhoramento genético, uso de forrageiras mais produtivas, adubação de pastagens e uso de aditivos na suplementação da dieta dos animais. O uso de aditivos, como o tanino, resulta em melhor aproveitamento da proteína proveniente da dieta, ocorrendo máxima síntese de proteína microbiana no rúmen, e aumento da quantidade de proteína metabolizável. Esse estudo visou verificar as emissões de N₂O, CH₄ e CO₂, além das concentrações de nitrato e amônio, mineralização e nitrificação de solos com doses crescentes de tanino condensado adicionados a urina de bovinos mantidos a pasto. O experimento consistiu em uma incubação e os tratamentos utilizados foram as doses de 0, 0,5 e 1,0 % de tanino condensado adicionado diretamente a urina dos animais. Os fluxos dos GEE foram quantificados utilizando câmaras estáticas e análise da concentração do gás em cromatografia gasosa durante quatro semanas. A concentração inicial e final de amônio e nitrato do solo foram determinadas utilizando a reação de Berthelot e de Griess, respectivamente. O delineamento utilizado foi o DIC, para as análises estatísticas, os dados GEE e o N mineral foram submetidos a ANOVA utilizando o programa estatístico R, versão 3.4.4 (2018) e teste de Tukey-HSD ($p > 0,05$). As emissões de N₂O diferiram entre os tratamentos e semanas ($P < 0,05$), apresentando emissões totais de 95,84; 265,30 e 199,32 mg N-N₂O m⁻² nos tratamentos com 0; 0,5 e 1% de tanino, respectivamente. As emissões de CH₄ diferiram entre os tratamentos e semanas ($p < 0,05$), apresentando emissões total de 8,84; 1,87 e 3,34 mg CH₄ m⁻² respectivamente. As emissões de CO₂ diferiram entre os tratamentos e semanas ($p < 0,05$), apresentando emissões total de 3,80; 6,93 e 5,87 g CO₂ m⁻². Ao final do experimento as concentrações de NO₃⁻ não diferiram entre os tratamentos ($p = 0,847$). As concentrações de NH₄⁺ diferiram entre os tratamentos ($p < 0,001$), apresentando valores medios de 10,27; 2,97 e 2,53 g N-NH₄⁺ g⁻¹ nas doses de tanino 0; 0,5 e 1% respectivamente. A mineralização líquida apresentou diferenças significativas entre os tratamentos ($p < 0,001$), com valores de 460, 159 e 156 µg N kg⁻¹ solo dia⁻¹, respectivamente. A nitrificação líquida não apresentou diferenças significativas entre os tratamentos ($p > 0,512$). O aumento na emissão de N₂O pode ser explicado pela inibição da mineralização de N provocada pela adição de tanino. A redução de CH₄ pode ter ocorrido pela inibição de microrganismos metanogênicos. O aumento da produção de CO₂ pode estar relacionada a respiração das bactérias

Palavras-chave: dióxido de carbono, metano, mineralização, nitrificação, óxido nitroso, tanino condensado

1. Introdução

A produção de bovinos é uma importante atividade econômica, gerando renda e emprego, além de utilizar alimentos fibrosos que não podem ser utilizados na alimentação humana e consequentemente produzindo proteína animal, que é essencial para a nutrição humana como fonte de aminoácidos essenciais via carne e leite (Smith et al., 2013). No entanto, a atividade produz gases de efeito estufa (GEE) que ao terem aumentadas suas concentrações na atmosfera causam aumento adicional de temperatura (aquecimento global) (IPCC, 2013; Cardoso et al., 2016; Reis et al., 2017). Desta forma, a sustentabilidade ambiental nos sistemas de produção de ruminantes tem sido altamente criticada por contribuírem nas emissões de GEE.

A pecuária ocupa a maior extensão territorial do Brasil, sendo uma atividade basicamente realizada a pasto. Algumas alternativas para o diminuir o aquecimento global e minimizar seus impactos são a diminuição dos desmatamentos, reflorestamento e melhorias do uso da terra. Integralmente ligado a essas alternativas está o aumento da produtividade, que pode ser realizado na pecuária a partir de melhoramento genético, uso de forrageiras mais produtivas, adubação de pastagens e uso de aditivos na suplementação da dieta dos animais (Cardoso et al., 2016b).

Em sistemas de pastagens o CO_2 é emitido por oxidação da matéria orgânica do solo, perdendo o carbono estocado, sendo que esses processos são determinados, principalmente por características do solo, respiração das raízes, umidade, temperatura, pH, substrato e atividades microbianas (Silva et al., 2006). Para Panosso et al. (2007) a temperatura e a umidade são os principais fatores de controle da variabilidade da emissão de CO_2 em solos

O CH_4 é produzido durante a fermentação ruminal e emitido em maiores proporções por eructação e em menores proporções pelas excretas dos animais. A produção de CH_4 pelas excretas dos animais ocorre por fermentação, onde o material orgânico é biologicamente degradado para CH_4 , CO_2 e frações de H_2 , N_2 e sulfeto de hidrogênio (H_2S). A composição, quantidade e disponibilidade do C e N, podem influenciar a atividade microbiana. A emissão de CH_4 também é controlada pela umidade do solo, pluviosidade e temperatura do ar e do solo (Bolan et al., 2004).

Segundo Saggar et al., (2004), o N_2O de excretas em pastagens é gerado de N originário de esterco, urina, fixação biológica de N_2 e uso de fertilizantes nitrogenados, sendo a quantidade desses gases depende de interações complexas

entre propriedades do solo, fatores climáticos e manejo do solo. A emissão de N_2O no solo é dependente de processos biológicos de nitrificação e desnitrificação (Bouwman et al., 2013), alterados pela temperatura, presença de água no solo, teores de C e N e propriedades do solo (Rowlings et al., 2015).

Forageira bem manejadas, principalmente no período das águas podem possuir alto teor de proteína bruta (PB), maximizando a disponibilidade de PB no rúmen dos animais, consequentemente ocorrendo perdas via urina (Dijkstra et al., 2009). A excreção de N contribui para emissões de amônia e óxido nitroso que têm impactos negativos no meio ambiente. A quantidade de N disponível na urina de bovinos é bem maior do que nas fezes, podendo ser excretado, mineralizado e nitrificado. Cardoso et al. (2015) observaram que o N originário da urina é mineralizado ou nitrificado basicamente nos primeiros três dias após adição de excretas, enquanto o N originário das fezes demora mais para ser mineralizado e nitrificado, ocorrendo em até sete dias.

Uma alternativa para o diminuir o aquecimento global e minimizar seus impactos é o uso de aditivos na suplementação da dieta de bovinos. O uso de aditivos pode melhorar o aproveitamento dos nutrientes consumidos pelos animais e consequentemente aumentar o ganho de peso e diminuir as perdas de nutrientes consumidos a partir da produção de dejetos. Gerber et al., (2003); Sauvant et al. (2011); Luo et al., (2010) sugerem que a suplementação proteica energética e o uso de aditivos proporcionam maiores ganhos de peso em ruminantes e, consequentemente diminuem as emissões dos GEE, no entanto, estudos relacionados a proporções de aditivos fitogênicos na dieta de animais e os efeitos nas emissões de GEE são escassos. Alguns aditivos, como o tanino, apresentam função “*by-pass*”, protegendo a proteína solúvel verdadeira da degradação ruminal, aumentando a quantidade de proteína metabolizável disponível para o metabolismo dos animais.

O tanino pode maximizar síntese de proteína microbiana no rúmen (Makkar, 2003), alterar as formas e quantidades de nitrogênio excretado pelos animais (Grainger et al., 2009) e a disponibilidade para as plantas e micro-organismos no solo (Hättenschwiler e Vitousek, 2000; Kraus et al., 2003), além de inibir alguns micro-organismos e enzimas. Esse estudo propôs verificar o potencial do uso de tanino condensado como mitigador dos GEE na urina de bovinos mantidos a pasto. A

hipótese estudada foi que a inclusão de tanino condensado na urina reduzirá a emissão de GEE.

2. Material e métodos

2.1. Caracterização do local

O experimento foi conduzido durante quatro semanas em novembro de 2018, no Laboratório de Forragicultura - Unesp, Campus de Jaboticabal/ SP, para avaliar a ação potencial dos taninos sobre a emissão de N_2O , CH_4 , CO_2 e a dinâmica de nitrogênio após a adição de urina no solo. As amostragens foram realizadas sob temperatura controlada de 25 ° C, utilizando uma estufa do tipo BOD (Demanda Química do Oxigênio).

2.2. Tratamentos

Os tratamentos utilizados foram 0, 0,5 e 1,0 % de tanino condensado de Quebracho (*Schinopsis balansae*) adicionado diretamente a urina dos animais, em um ensaio com cinco repetições, onde os tratamentos foram dispostos inteiramente ao acaso e cada repetição (câmara) foi definida como uma unidade experimental.

A incubação foi realizada utilizando frascos de 500 ml, onde foi acondicionado 100 g de solo seco ao ar, retirados da camada de solo de 0 a 20 cm de profundidade. O solo utilizado era proveniente de uma área de pastagem de *Urochloa brizantha* (Hochst. ex A. Rich.) Stapf cv. Marandu sem animais e foi previamente analisado quimicamente (Tabela1) e classificado como Aw no sistema Köppen (ALVARES et al., 2013).

Tabela 1. Análise química do solo utilizado no experimento em laboratório

P	MO	pH	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	H+Al	SB	CTC	V
resina		CaCl ₂							
mg/d (m ³)	g/dm ³				mmolc/dm ³				%

Solo	12	25	5,6	2,6	36	11	22	50	72	69
------	----	----	-----	-----	----	----	----	----	----	----

Data: 09/08/2018. P resina = fósforo extraído do solo por resina trocadora de íons ($\text{mg/dm}^3 = \mu\text{g/cm}^3$), MO = matéria orgânica ($\text{g/dm}^3 = \%$, com base em volume de solo $\times 10$), pH em CaCl_2 = pH determinado em solução centimolar de cloreto de cálcio, K^+ , Ca^{2+} e Mg^{2+} = respectivamente potássio, cálcio e magnésio trocáveis, ($\text{mmolc/dm}^3 = \text{cmolc/dm}^3 \times 10$), H+Al = acidez potencial ou total ($\text{mmolc/dm}^3 = \text{cmolc/dm}^3 \times 10$), SB = soma de bases ($\text{Ca}^{2+} + \text{Mg}^{2+} + \text{K}^+$), CTC = capacidade de troca de cátions, ou $\text{SB} + (\text{H} + \text{Al})$, V = índice de saturação por bases ou $V = 100 \cdot \text{SB} / \text{CTC}$.

Três dias antes do início do experimento, no dia 4 de novembro de 2018, a umidade gravimétrica do solo foi elevada a 30 % (massa: massa) para estimular o crescimento da população microbiana.

No dia da implantação do experimento, dia 7 de novembro de 2018, 50 mL de urina fresca contendo a concentração de tanino desejada foram adicionados a cada unidade experimental. A urina utilizada foi coletada de tourinhos Nelore que manejados a pasto e o tanino condensado foi adicionado imediatamente após a coleta seguido da aplicação ao solo. A porcentagem de matéria seca da urina foi de 2,35%, a concentração de ureia foi de 65 mg dL^{-1} , o pH de 8,7 e a proporção de C e N eram de $1,57 \text{ g L}^{-1}$ e $2,52 \text{ g/L}^{-1}$ respectivamente.

2.3. Quantificação de N_2O , CO_2 e CH_4

As coletas dos GEE foram realizadas a partir do dia 7 de novembro de 2018, as 16 horas, sendo que a frequência de coletas foi realizada durante oito dias consecutivos, posteriormente a cada dois dias durante duas semanas e a cada 3 dias durante uma semana, totalizando 28 dias de incubação.

Os frascos constituíram uma câmara estática fechada e as amostragens de gás para quantificação dos GEE foram realizadas utilizando seringas estéreis de polipropileno de 50 mL e acondicionadas em frascos (frascos de Shimadzu) vedados de 20 mL e pré evacuados a -800 Pa, até posterior leitura das concentrações por cromatografia gasosa gás (Shimadzu Green House Gas Analyzer GC-2014; Kyoto, Japan) em até quinze dias.

Para a realização das coletas, as câmaras foram fechadas durante 30 min e as amostras foram coletadas no tempo 0 min e no tempo 30 min.

Os fluxos de N_2O ($\text{N-N}_2\text{O}$ em $\mu\text{g m}^{-2} \text{ h}^{-1}$), CH_4 (C-CH_4 em $\mu\text{g m}^{-2} \text{ h}^{-1}$) e CO_2 ($\text{g de CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ h}^{-1}$) foram corrigidos para as CNTPs (Condições Normais de Temperatura

e Pressão) e calculados em função das mudanças de concentração do gás no interior da câmara no período de incubação, de acordo com a seguinte equação:

$$\text{Fluxo do gás} = \delta\text{gas}/\delta T \times M/V_m \times V/A$$

Onde, δgas é o aumento na concentração do gás no período de incubação ($\mu\text{L L}^{-1}$); δT é o período de incubação (h); M é a massa molar do gás em N ou C; V_m é o volume molecular corrigido pela temperatura e pressão no momento de amostragem (L mol^{-1}); V é o volume da câmara (m^3); e A é a área que a câmara cobre (m^2).

Os fluxos horários foram multiplicados por 24, possibilitando determinar as emissões diárias e integrados por interpolação, obtendo-se a emissão cumulativa. Os fluxos negativos foram incluídos nos cálculos para evitar enviesamento nos resultados (Van Der Weerden et al., 2016).

2.4. Quantificação do N mineral

A concentração inicial e final de amônio e nitrato do solo foram determinadas com intuito de avaliar o efeito da adição de taninos condensados a urina sobre a mineralização e nitrificação líquida de nitrogênio.

A mineralização de nitrogênio foi obtida através da seguinte formula:

$$\text{Mineralização} = \text{N mineral final} - \text{N mineral inicial} / \text{dias}$$

Onde os dias foram referentes aos 28 dias experimentais. A nitrificação líquida foi obtida procedendo o mesmo cálculo, porém utilizando as concentrações de nitrato, de acordo com a seguinte formula:

$$\text{Nitrificação líquida} = \text{NO}_3^- \text{ final} - \text{NO}_3^- \text{ inicial} / \text{dias}$$

Onde os dias foram referentes aos 28 dias experimentais.

As umidades das amostras foram determinadas pelo método gravimétrico (Teixeira et al., 2017). Utilizando 10 g de solo e para a determinação do N mineral

(amônio e nitrato) que foram misturadas a 50 ml 2 M KCl e agitadas por 30 min a 240 rpm (rotações por minuto) e filtradas. A solução filtrada foi utilizada para a determinação de N-nitrato (incluindo N-nitrito), e N-amônio. Para determinação de amônio (NH_4^+) e nitrato (NO_3^-) através do método colorimétrico, foram utilizadas a reação de Berthelot (Forster, 1995) e reação de Griess através da redução pelo cloreto de vanádio-III (Doane et al., 2003), respectivamente.

3. Delineamento experimental e análises estatísticas

O delineamento utilizado foi o inteiramente ao acaso (DIC) com cinco repetições. Os fluxos dos GEE e o N mineral foram somados, submetidos a ANOVA após teste de normalidade (teste de Shapiro-Wilk) e homocedasticidade (teste de Bartlett), utilizando o programa estatístico R, versão 3.4.4 (2018). Quando a ANOVA foi significativa foi realizado o teste de Tukey-HSD ($p > 0,05$) para distinguir diferenças entre as médias dos tratamentos.

4. Resultados e discussão

4.1. Emissões de N_2O

A análise dos dados apresentados na Figura 1, evidenciam que as emissões de N_2O diferiram entre os tratamentos e semanas ($P < 0,05$). Na primeira semana, as emissões de N_2O do tratamento sem adição de tanino foram menores que nos tratamentos com adição de 0,5 e 1% de tanino. Na segunda semana as maiores emissões foram constatadas no tratamento com 0,5% de tanino, seguido do tratamento com 1% e os valores mais baixos foram registrados no tratamento sem adição de tanino. Na terceira semana não houve diferença significativa entre os tratamentos.

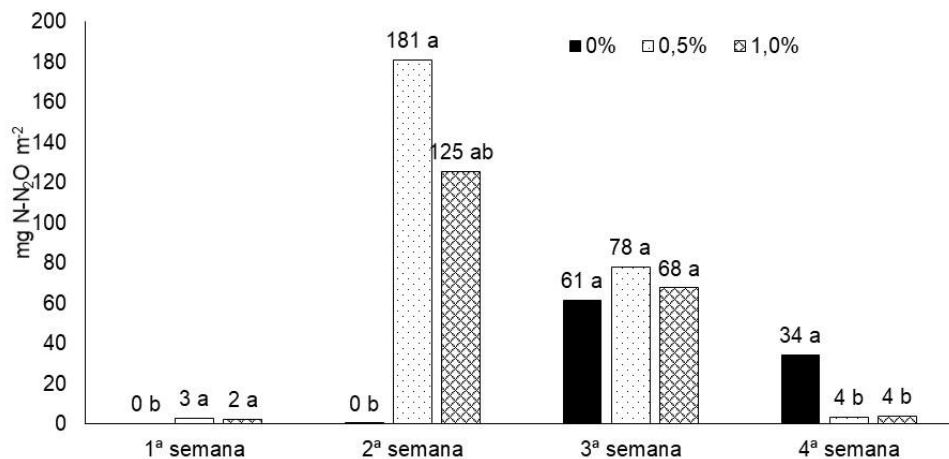


Figura 1. Emissões acumuladas por semana de N_2O ($N-N_2O$ em $mg\ m^{-2}$) de solos tratados com urina e doses crescentes de tanino

Na quarta semana as emissões de N_2O foram maiores no tratamento sem adição de tanino, em relação aos tratamentos contendo 0,5 e 1,0% de tanino.

A análise dos dados apresentados na Figura 2 evidenciam que as emissões acumulativas de N_2O do tratamento que não foi adicionado tanino na urina é muito menor em relação a adição de 0,5 e 1%. As emissões acumulativas do tratamento com 1% de tanino são menores em relação a adição de 0,5%, porém, o comportamento das curvas foi muito similar.

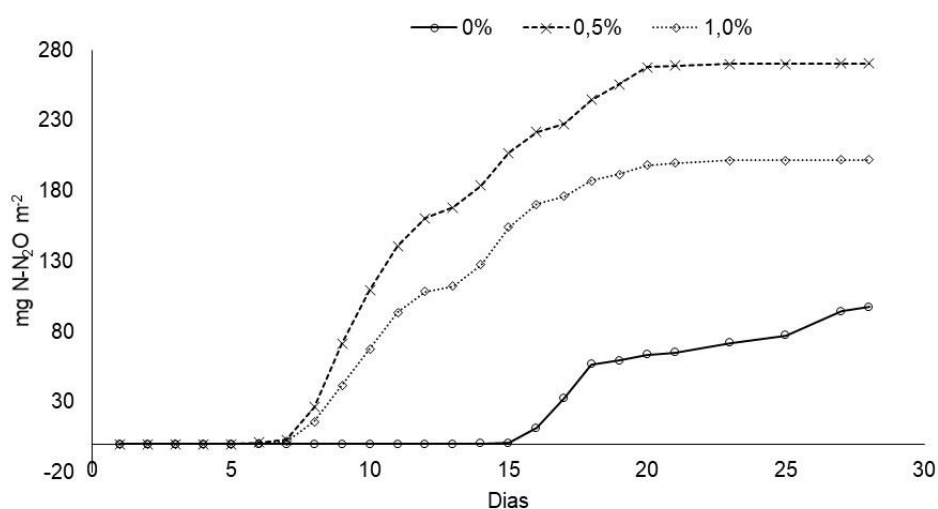


Figura 2. Fluxos acumulativos de N_2O ($N-N_2O$ em $mg\ m^{-2}\ h^{-1}$) de solos com urina e doses crescentes de tanino

A adição de tanino nas proporções de 0,5 e 1%, possivelmente estimulou o desenvolvimento de alguns microrganismos de forma mais intensa no decorrer do tempo.

As maiores emissões de N_2O podem estar diretamente relacionadas a inibição da nitrificação e mineralização líquidas ocorridas nos tratamentos com adição de tanino. Na primeira semana as diferenças das emissões de N_2O não foram tão evidentes (Figura 2), provavelmente devido a população microbiana ainda não ter se desenvolvido, porém, a partir da segunda semana, as emissões dos tratamentos com adição de tanino foram antecipadas em relação ao tratamento sem adição de tanino.

4.2. Emissões de CH_4

A avaliação dos dados apresentados na Figura 3, evidencia que as emissões de CH_4 diferiram entre os tratamentos e semanas ($p < 0,05$). Na primeira e segunda semanas, as emissões de CH_4 não diferiram entre os tratamentos. Na terceira semana as emissões do tratamento sem adição de tanino foram maiores que nos tratamentos com adição de 0,5 e 1% e na quarta semana as emissões de CH_4 não diferiram entre os tratamentos.

A análise dos dados apresentados na Figura 4 evidenciam que as emissões acumulativas de CH_4 do tratamento que não foi adicionado tanino na urina foi maior, seguido das emissões do tratamento com 0,5% de tanino na urina. Os valores de emissão acumulativa mais baixos foram observados nos tratamentos com 1% de tanino adicionado na urina. Mesmo que as emissões cumulativas totais tenham sido diferentes entres os tratamentos, o comportamento das curvas foi muito similar.

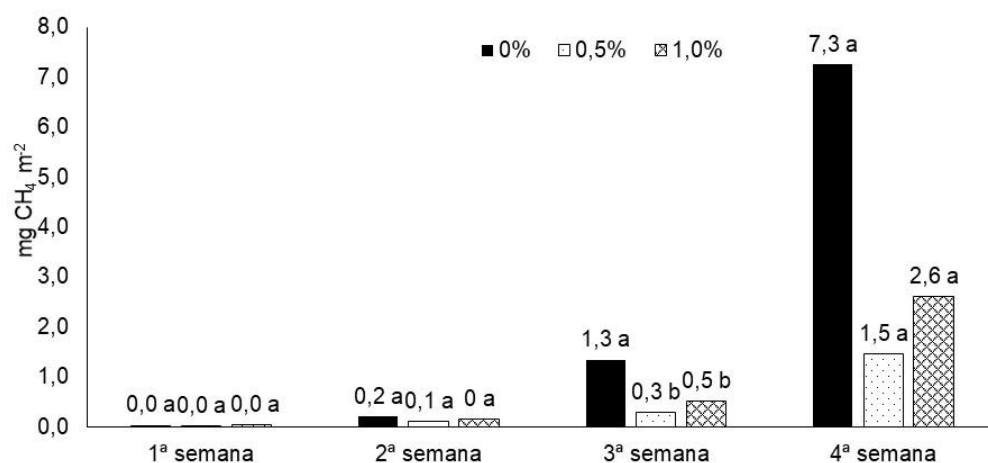


Figura 3. Emissões acumuladas por semana de CH₄ (C-CH₄ em mg m⁻²) de solos com urina e doses crescentes de tanino

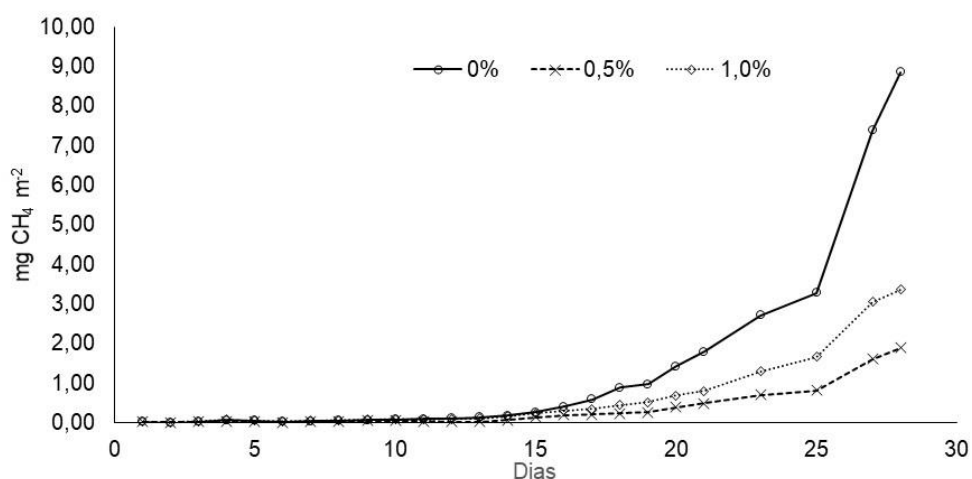


Figura 4. Fluxos acumulativos de CH₄ (C-CH₄ em mg m⁻² h⁻¹) de solos com urina e doses crescentes de tanino

A adição de tanino nas proporções de 0,5 e 1%, possivelmente inibiu o desenvolvimento de alguns micro-organismos metanogênicos na primeira semana e segunda semana, retardando a produção de CH₄. Os dados obtidos corroboram com estudos que evidenciaram menores emissões de CH₄ de ruminantes alimentados com leguminosas contendo tanino (Patra et al., 2011; Bueno et al., 2015).

4.3. Emissões de CO₂

A avaliação dos dados apresentados na Figura 5, evidenciam que as emissões de CO₂ diferiram entre os tratamentos e semanas ($p < 0,05$). Na primeira semana, as emissões de CO₂ foram maiores nos tratamentos contendo 0,5 e 1,0% de tanino em relação ao tratamento sem adição de tanino. Já na segunda, terceira e quarta semanas, não houve diferenças significativas nas emissões entre os três tratamentos. Considerando as emissões totais, a emissão do tratamento sem adição de tanino foi menor em relação aos tratamentos com 0,5 e 1% de tanino, que estatisticamente foram iguais.

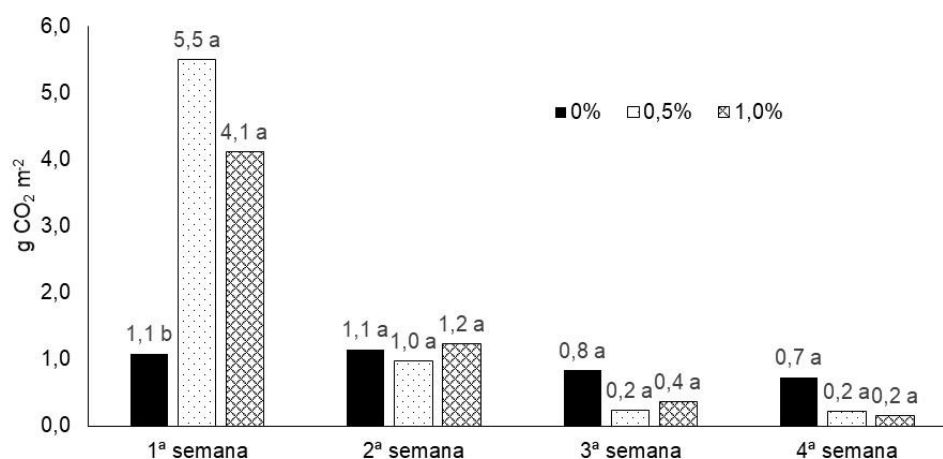


Figura 5. Emissões acumuladas por semana de CO₂ (g de CO₂ m⁻²) de solos com urina e doses crescentes de tanino

A análise dos dados apresentados na Figura 6 demonstram que as emissões acumulativas de CO₂ do tratamento que não foi adicionado tanino na urina foi menor em relação a adição de 0,5 (moderada) e 1% (alta). As emissões acumulativas do tratamento com 1% de tanino foram menores em relação a adição de 0,5%, porém, o comportamento das curvas é muito similar.

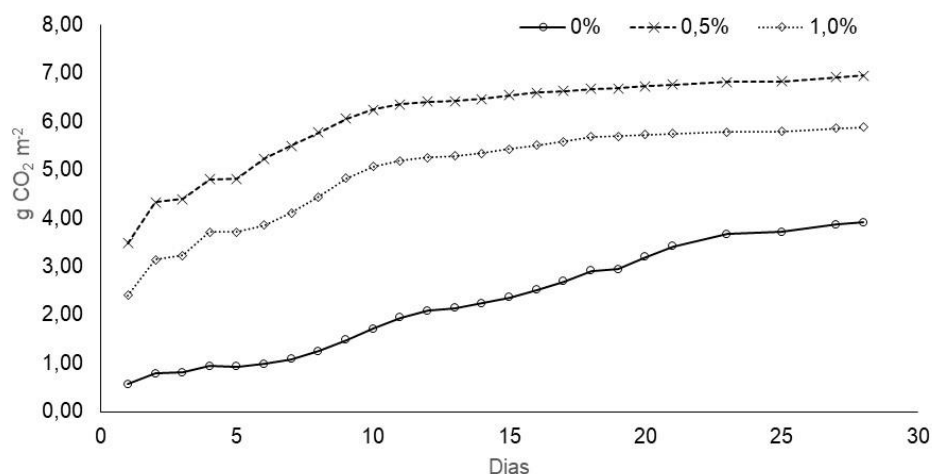


Figura 6. Fluxos acumulativos de CO₂ (g de CO₂ m⁻² h⁻¹) de solos com urina e doses crescentes de tanino

A adição de tanino nas proporções de 0,5 e 1%, possivelmente estimulou o desenvolvimento de alguns microrganismos na primeira semana. De acordo com Bueno et al., (2015) o tanino inibe o crescimento de microrganismos que competem por nutrientes com outros microrganismos como bactérias. Neste estudo observou-se o mesmo efeito, porém com o aumento da produção de CO₂ que pode estar relacionada a respiração das bactérias. A caracterização microbiológica do solo em estudos de emissão de CO₂ de excretas de bovinos suplementados com tanino se faz necessária.

4.4. N mineral

As concentrações iniciais de nitrato e amônio do solo utilizado em todos os tratamentos foram de 1,24 g N-NO₃⁻ kg⁻¹ de solo seco e 0,51 g N-NH₄⁺ kg⁻¹ de solo seco, repectivamente.

A análise dos dados evidenciaram que as concentrações de nitrato (Figura 7a) não diferiram entre os tratamentos ($p = 0,401$), apresentando valores médios de 2,96; 1,48 e 1,83 g N-NO₃⁻ kg⁻¹ referentes as doses de tanino zero, moderada e alta, respectivamente.

Oberva-se pelas análises dos dados que as concentrações de amônio (Figura 7b) diferiram entre os tratamentos ($p < 0,001$), apresentando valores médios de 10,27;

2,97 e 2,54 g N-NH₄⁺ kg⁻¹ referentes as doses de tanino zero, moderada e alta, respectivamente.

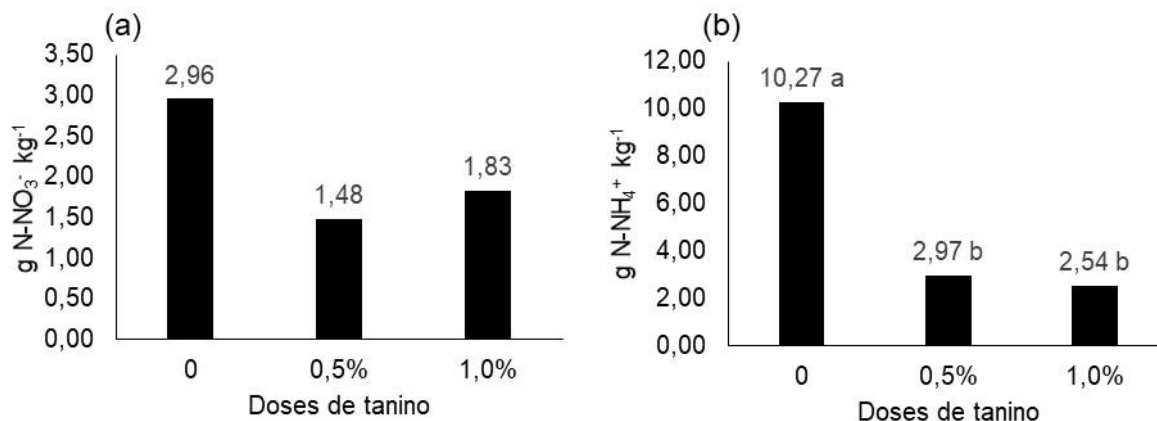


Figura 7. Concentrações finais de nitrato em g N-NO₃⁻ kg⁻¹ (a) e amônio em g N-NH₄⁺ kg⁻¹ (b) dos tratamentos com doses crescentes de tanino

A mineralização líquida, definida pela concentração de amônio e nitrato final total, menos a inicial, dividido pelo número de dias, apresentou diferenças significativas entre os tratamentos ($p < 0,001$). O tratamento sem adição de tanino (zero) apresentou valores médios de 460 mg N kg⁻¹ solo seco dia⁻¹, enquanto os valores das doses moderada e alta foram mais baixos, 159 e 156 mg N kg⁻¹ solo seco dia⁻¹ respectivamente. A adição de tanino inibiu a mineralização líquida.

A nitrificação líquida, definida pela concentração de nitrato final, menos a inicial, dividida pelo número de dias, não apresentou diferenças significativas entre os tratamentos ($p > 0,512$). Os valores médios calculados foram de 61,41; 8,67 e 21,28 mg kg⁻¹ de N-NO₃⁻ nas doses zero, moderada e alta.

As concentrações totais de N no solo dos tratamentos com adição de tanino foram menores em relação ao tratamento sem adição de tanino.

5. Conclusões

A adição de tanino condensado na urina de bovinos não mitigou as emissões de N₂O e CO₂, provavelmente em decorrência da respiração de microrganismos.

Porém a adição de tanino em ruminantes proporciona a diminuição na produção de CH₄, evitando perdas de energia decorrente da fermentação ruminal.

Devem ser realizados estudos associados ao uso de tanino, respiração de microrganismos e emissões de GEE em excretas de ruminantes, podendo esclarecer melhor quais microrganismos estão associados as emissões de cada um dos gases e de como ocorrem os processos. Desta forma, pode-se definir melhor o potencial de uso do tanino condensado na mitigação dos GEE.

6. Referências

BOLAN, N. S.; SAGGAR, S.; LUO, J.; BHANDRAL, R.; SINGH, J. Gaseous emissions of nitrogen from grazed pastures: processes, measurements and modeling, environmental implications, and mitigation. **Advances in agronomy**, v. 84, n. 37, p. 120, 2004.

BOUWMAN, A. F.; BEUSEN, A. H. W.; GRIFFIOEN, J.; VAN GROENIGEN, J. W.; HEFTING, M. M.; OENEMA, O.; VAN PUIJENBROEK, P. J. T. M.; STEHFEST, S.; SLOMP, C. P.; STEHFEST, E. Global trends and uncertainties in terrestrial denitrification and N₂O emissions. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, v. 368, n. 1621, p. 20130112, 2013.

BUENO, I.C.S.; BRANDI, R.A.; FRANZOLIN, R.; FAGUNDES, G.M.; BENETEL, G.; ABDALLA, A.L.; LOUVANDINI, H.; MUIR, J. P. Comparative *in vitro* methane production and antimethanogenic effect of tannins in five ruminant species. **Animal Feed Science and Technology**, v. 205, p.1-9, 2015.

CARDOSO, A. S.; ALVES, B. J. R.; URQUIAGA, S.; BODDEY, R.M. Effect of volume of urine and mass of feces on N₂O and CH₄ emissions of dairy cow excreta in a tropical pasture. **Animal Production Science**. 56, A-F. 2016b.

CARDOSO, A. S.; OLIVEIRA, S. C.; BRITO, L. F.; JANUSCKIEWICZ, E. R.; MORGADO, E. S.; RUGGIERI, A. C. Mineralização e nitrificação do nitrogênio no solo sob pastagem após deposição de excretas bovinas e fertilizante ureia. XXXV Congresso Brasileiro de Ciência do Solo, 2015, Natal. **Anais do XXXV Congresso Brasileiro de Ciência do Solo**, 2015.

CARDOSO, ABMAEL S.; ALVES, B. J. R.; URQUIAGA, S.; BODDEY, R.M. Impact of the intensification of beef production in Brazil on greenhouse gas emissions and land use. **Agricultural Systems**, v. 143, p. 86-96, 2016a.

DIJKSTRA, J., OENEMA, O., VAN GROENIGEN, J. W., SPEK, J. W., VAN VUUREN, A. M., & BANNINK, A. Diet effects on urine composition of cattle and N₂O emissions, **Animal**, 7, 292–302, 2013.

DOANE, T. A.; HORWATH, W. R. Spectrophotometric determination of nitrate with a single reagent. **Analytical Letter**. 36, 2713-2722. 2003.

FORSTER, J. C. Soil nitrogen. Alef K, Nannipieri P (eds) *Methods in Applied Soil Microbiology and Biochemistry*. **Academic**, San Diego, pp 79-87. 1995.

GERBER, P. J., HENDERSON, B., & MAKKAR, H. P. Mitigation of greenhouse gas emissions in livestock production: a review of technical options for non-CO₂ emissions (No. 177). **Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO)**, 2013.

GRAINGER, C.; CLARKE, T.; AULDIST, M.J.; BEAUCHEMIN, K.A.; MCGINN, S.M.; WAGHORN, G.C.; ECKARD, R.J. Potential use of *Acacia mearnsii* condensed tannins to reduce methane emissions and nitrogen excretion from grazing dairy cows. **Can. J. Anim. Sci**, 89, 241–251, 2009.

HÄTTENSCHWILER, S., VITOUSEK, P. M. The role of polyphenols in terrestrial ecosystem nutrient cycling. **Trends in Ecology & Evolution**. 15:238-243, 2000.

IPCC, International Panel on Climate Change (2013). The physical science basis. Contribution of working group I to the fifth assessment report of the intergovernmental panel on climate change. In T. F. Stocker, D. Qin, G. K. Plattner, M. Tignor, S. K. Allen, J. Boschung, ... P. M. Midgley (Eds.), *Climate change 2013*. 1– 29, 2013.

KRAUS, T. E. C., DAHLGREN, R. A., ZASOSKI, R. J. 2003. Tannins in nutrient dynamics of forest ecosystems-a review. **Plant and Soil**. 256:41-66. doi:10.1023/A:1026206511084.

LUO, J., DE KLEIN, C.A.M., LEDGARD, S.F. & SAGGAR, S. Management options to reduce nitrous oxide emissions from intensively grazed pastures: A review. **Agric. Ecosyst. Environ**. 136: 282–291, 2010.

MAKKAR, H.P.S. Effect and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. **Small Ruminant Research**, v.49, p.241-256, 2003.

PANOSSO, A. R.; LA SCALA JÚNIOR, N.; PEREIRA, C. T.; MARQUES JÚNIOR, J.; BARBIERI, D. M. Emissão de CO₂ num latossolo sob diferentes lâminas de molhamento. In: **XVI Reunião brasileira de manejo e conservação do solo e da água**. Aracaju, Anais Aracaju: SBCS, 2006.

PATRA, A. K.; SAXENA, J. Exploitation of dietary tannins to improve rumen metabolism and ruminant nutrition. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.91, p.24-37, 2011.

REIS, R. A.; ROMANZINI, E. P.; BARBERO, R. P. A Suplementação como ferramenta no ajuste da taxa de lotação. In: Encontro dos encontros da Scot Consultoria, 2017, Ribeirão Preto. **Anais do Encontro dos encontros da Scot Consultoria**. São Carlos: Suprema, v. 1. p. 165-175. 2017.

ROWLINGS, D. W.; GRACE, P. R.; SCHEER, C.; LIU, S. Rainfall variability drives interannual variation in N₂O emissions from a humid, subtropical pasture. **Science of The Total Environment**, v. 512, p. 8-18, 2015.

SAGGAR, S., BOLAN, N. S., BHANDRAL, R., HEDLEY, C. B., & LUO, J. A review of emissions of methane, ammonia, and nitrous oxide from animal excreta deposition and farm effluent application in grazed pastures. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 47(4), 513-544, 2004.

SAUVANT, D., GIGER-REVERDIN, S., SERMENT, A. & BROUDISCOU, I. Influences des régimes et de leur fermentation dans le rumen sur la production de méthane par les ruminants. **Productions animales**, 24(5), 433, 2011.

SMITH, J., SONES, K., GRACE, D., MACMILLAN, S., TARAWALI, S., & HERRERO, M. Beyond milk, meat, and eggs: Role of livestock in food and nutrition security. **Animal Frontiers**, 3(1), 6-13, 2013.

TEIXEIRA, P. C.; DONAGEMMA, G. K.; FONTANA, A.; TEIXEIRA, W. G. Manual de métodos de análise de solo. **Embrapa Solos-Documentos** (INFOTECA-E), 2017.

VAN DER WEERDEN, T. J. et al. Nitrous oxide emissions from urea fertiliser and effluent with and without inhibitors applied to pasture. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 219, p. 58-70, 2016.

Capítulo 3 – Efeito da suplementação com aditivo fitogênico sobre a emissão de gases de efeito estufa de excretas de bovinos

RESUMO - Com o aumento da adoção de tecnologia na produção de bovinos de corte a suplementação e a intensificação do uso das pastagens tornou-se uma atividade corriqueira. Esse estudo foi realizado em pasto de capim marandu, sob método de lotação contínua e taxa de lotação variada, com tourinhos da raça nelore. O experimento teve duração de 143 dias, com 4 tratamentos em relação a suplementação animal : proteico-energética + aditivo fitogênico (PV); proteico-energética (P); sal mineral + aditivo fitogênico (SV); sal mineral (S) e 3 tratamentos em relação a localização dos piquetes: área de alimentação dos animais (A), centro dos piquetes (B) e próximas das cercas (C), com intuito de verificar emissões e possíveis formas de mitigação de CH₄ e N₂O e quantificar a volatilização de NH₃ após a adição de fezes, fezes+urina e urina. Os fluxos dos GEE foram quantificados utilizando câmaras estáticas e analisados por cromatografia gasosa. A volatilização de NH₃ foi avaliada utilizando câmaras coletoras. O delineamento utilizado foi o DIC, para as análises estatísticas. Os dados GEE e o N mineral foram submetidos a ANOVA utilizando o programa estatístico R, versão 3.4.4 (2018) e teste de Tukey-HSD ($p > 0,05$). Houve diferença significativa entre emissões de acordo com a suplementação ($p = 0,004$), onde as emissões em cada período e totais de P e PV foram maiores que S e SV. As emissões totais de N₂O em relação a localização das câmaras apresentaram diferença ($p = 0,015$), sendo que as câmaras localizadas no centro dos piquetes emitem menos N₂O, as câmaras localizadas na região marginal emitem mais N₂O e as câmaras próximas ao cocho apresenta valor intermediário. Houve diferença significativa entre emissões de CH₄ das excretas dos animais recebendo suplementação ($p = 0,021$), sendo que as emissões totais de SV apresentaram os valores mais baixos, seguidas de PV e S e o tratamento SV emitiu mais CH₄. Considerando as emissões de CH₄ de acordo com localização das câmaras não houve diferença nas emissões totais ($p = 0,077$). A volatilização de N-NH₃ não variou de acordo com o tipo de suplemento ($p = 0,231$), mas variou com o tipo de excreta ($p < 0,001$). A volatilização de amônia pelas excretas independe da suplementação dos animais e a volatilização de urina é maior que das fezes e fezes + urina. Ouve correlação entre as emissões de N₂O e a produção de amônia no solo nos tratamentos PV ($p = 0,0008$) e P ($p = 0,0004$), a pluviosidade nos tratamentos P ($p = 0,0105$) e S ($p = 0,0339$), a umidade do solo nos tratamentos PV ($p = 0,0067$) e SV ($p = 0,0439$) e a produção de CO₂ em PV, SV e S ($p < 0,0001$). Ouve correlação entre as emissões de CH₄ e a umidade do solo em SV ($p = 0,0027$), e a produção de CO₂ em PV ($p = 0,0377$) e S ($p = 0,0002$). A suplementação proteico-energética aumentou as emissões de N₂O de excretas de ruminantes, tendo maior influência sobre as emissões que o aditivo fitogênico. A suplementação proteico-energética aumentou as emissões de CH₄ de excretas de ruminantes e os aditivos fitogênicos mitigaram as emissões.

Palavras-chave: aditivo fitogênico, excretas, gases do efeito estufa, pastagens, ruminantes, suplementação animal

1. Introdução

O Brasil é um país com grande parte da economia baseada na agropecuária, onde o agronegócio representou em 2018, 21,1% do PIB nacional (CEPEA, 2018). Embora a agropecuária seja fonte de renda e fornecimento de alimentos mundialmente, ela está intimamente ligada ao desmatamento e as mudanças do uso do solo, que são grandes responsáveis pelas emissões de GEE do país (Steinfeld et al., 2006).

Mais de 45% da área ocupada pela agropecuária no país é utilizada como pastagens (IBGE, 2017) e a maior parte rebanho brasileiro é criada a pasto de maneira extensiva (Ferraz; Felício, 2010). Tais fatores também contribuem para as emissões de GEE, uma vez que as pastagens em sua maioria não têm manejo adequado, gerando condições de superpastejo ou subpastejo, e consequentemente degradação ambiental e maior emissão de gases de efeito estufa (Bernoux et al., 2001; Berchielli et al., 2012).

Os GEE de maior importância na agropecuária são o N_2O , CH_4 e CO_2 . As emissões de N_2O estão diretamente relacionadas com a dinâmica de (nitrogênio) N do solo, presença de microrganismos, pela umidade (Rochette, 2008), pelo teor de N no solo, pela nitrificação e desnitrificação (Carter, 2007) e pela decomposição da matéria orgânica, como a deposição de excretas dos animais (Berchielli et al., 2012), principalmente a urina (Carter, 2007). O CH_4 , é naturalmente produzido pelo processo de fermentação ruminal e pela decomposição dos dejetos dos animais, influenciada por diversos fatores, como o consumo alimentar, a composição da dieta, a quantidade de lipídeos ingerida e a digestibilidade do alimento (Martin et al., 2010; Archimede et al., 2011), mas também pode ser influenciada por condições climáticas, pois é produzido em condições de anaerobiose por arqueais metanogênicas, presentes no ambiente ruminal e também no solo.

Uma alternativa para minimizar as emissões de GEE é a suplementação proteico-energética de ruminantes mantidos a pasto. O uso de suplementos proteico-energéticos na alimentação de ruminantes mantidos a pasto tem o intuito de alterar a relação de ácidos graxos de cadeia curta presentes no rúmen, tais como, acetato, butirato e propionato. As vias metabólicas que promovem a geração de acetato e butirato contribuem para a geração de CH_4 , pois ocorre maior formação de íons H^+ ,

já a produção de propionato é considerada uma via de competição (Van Soest, 1994), utilizando o hidrogênio presente no rúmen e consequentemente diminuindo as perdas de CH₄ por eructação (Moss, 2000).

Contudo, o excesso de nutrientes provenientes da dieta pode acarretar perdas, devido ao aumento da quantidade de amônia no rúmen. A amônia não utilizada pelos microrganismos ruminais é absorvida no rúmen pela corrente sanguínea, sendo conduzida para o fígado e convertida em ureia, que caso não reciclada através da saliva, é excretada via urina (Abdoun et al., 2006; Owens e Basalan, 2016; Jungens, 2002). A perda desses nutrientes, em especial o nitrogênio gera perdas econômicas e poluição ao meio ambiente (Kebreab et al., 2009; Castillo et al., 2000).

O uso de aditivos na suplementação surge como uma ferramenta para minimizar as perdas de N no metabolismo animal. Aditivos fitogênicos, especialmente óleos essenciais e tanino podem agir sobre os microrganismos. Segundo Bodas et al., (2012) e Kamra et al., (2006) o modo de ação dos aditivos fitogênicos é semelhante ao dos ionóforos, atuando principalmente sobre bactérias gram-positivas, CO₂ e CH₄ (Hristov et al., 2013; Cieślak, 2013).

Os óleos essenciais são metabólitos secundários de algumas plantas, substâncias lipofílicas, líquidas e voláteis, com capacidade de interagir com lipídios da membrana celular e mitocôndrias das bactérias, alterando a estrutura das membranas, tornando-as mais fluidas, permeáveis e permitindo o extravasamento de íons e outros conteúdos citoplasmáticos (Dorman e Deans, 2000). Os taninos são capazes de inibir a multiplicação de arqueais metanogênicas no rúmen (Patra et al., 2013), consequentemente diminuir as emissões por eructação (Puchala et al., 2005; Beauchemin et al., 2007), além de reduzir a taxa de degradabilidade ruminal da proteína (Hervás et al., 2004; Frutos et al., 2000).

Além das emissões de GEE na agropecuária serem influenciadas pela alimentação, metabolismo e presença de excretas dos animais, outros fatores que também são relevante são o manejo das pastagens, alturas de pastejo e características relacionadas ao solo, como umidade e aeração, consequentemente a densidade do solo é um importante parâmetro físico relevante nas emissões de GEE. A densidade altera a integridade física do solo, realocando componentes sólidos e alterando a porosidade e distribuição de tamanho dos poros.

O pastejo dos animais interfere na integridade física do solo, resultando na degradação através da ação dos cascos (Betteridge et al., 2002, Pande et al., 2000, Ward e Greenwood, 2002). O pisoteio do gado proporciona uma pressão na camada de 0 a 10 cm do solo, onde a intensidade, frequência de pastejo e carga animal interfere na compactação do solo, desta forma, áreas com maior intensificação podem proporcionar solos mais compactados (Houlbrooke et al., 2011; Segnini et al., 2019). Além disso, o teor de matéria orgânica, cobertura do solo, manejo das forrageiras e o hábito de crescimentos das espécies forrageiras também pode interferir na compactação, de forma que a manutenção da pastagem, tais como adubação, escolha adequada da forrageira e pastejo em condições ótimas, podem evitar a compactação do solo e consequentemente as emissões de GEE. Áreas determinadas pelos animais como áreas de descanso nos piquetes também tem maior frequência de pisoteio e maior deposição de excretas (Bráz, 2003; Carnevalli, 2019), proporcionando solos mais compactados, maior deposição de matéria orgânica e condições de anaerobiose, o que pode estimular a produção de CH_4 e N_2O (Luo et al., 2017; Taylor et al., 2017;).

Estudos relacionados a localização dos piquetes e estratégias nutricionais visando mitigar os GEE das excretas de ruminantes são escassos. Sabe-se que a composição da dieta fornecida aos animais influencia características químicas e físicas do solo (Muir, 2011) e dietas com menor teor de PB contribuem com menos N para a ciclagem de nutrientes e fonte de nutrientes para a forragem (Powell et al., 2006). Esse estudo tem como objetivo verificar se a suplementação proteico-energética, o uso de aditivos fitogênicos e áreas de pastejo menos compactados podem mitigar o N_2O , CH_4 . Também objetivou-se verificar se o uso de aditivos fitogênicos pode diminuir perdas de N, através de volatilização de NH_3 . As hipóteses são que a suplementação com aditivos fitogênicos pode mitigar N_2O e CH_4 , o aditivo fitogênico diminuirá as perdas de N e áreas menos compactadas emitem menos N_2O e CH_4 .

2. Material e métodos

2.1. Localização e características da área experimental

O experimento foi realizado de dezembro de 2018 a abril de 2019, coincidindo com o período de recria de bovinos machos não castrados da raça Nelore, no setor de Forragicultura da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, Campus de Jaboticabal, São Paulo, localizado a 21 ° 14 ' S e 48 ° 17 ' O, a 628 m de altitude, com precipitação anual média de 1424 mm, temperatura anual mínima de 16,9 ° C, máxima de 26,3 ° C e média de 22,3 ° C. O clima da região é caracterizado por estação chuvosa de setembro a abril e seca de maio a agosto e foi classificado como Aw no sistema Köppen (ALVARES et al., 2013).

A área experimental é composta de pastagem de *Urochloa brizantha* (Hochst. ex A. Rich.) Stapf cv. Marandu, estabelecida em 2001. Os pastos foram manejados em sistema de lotação contínua e carga variável, adotando-se a altura de 25 cm, com aproximadamente 5 UA (Unidade animal = 450 kg) ha⁻¹. Segundo Barbero et al. (2015) este sistema de pastejo permitiu as maiores taxas de acúmulo líquido e melhor qualidade de forragem.

Para a condução do experimento com as câmaras, foram utilizados quatro piquetes da área (Figura 1) com dimensões variando de 0,5 (1 piquete, PV), 0,7 (1 piquete, S) e 1,2 ha (2 piquetes, SV e P), onde os animais *testers* permaneceram todo o período na pastagem. Além dos quatro piquetes com as câmaras, foi utilizado um piquete adicional para a realização das coletas de amônia volatilizada, visto que a presença dos animais impossibilitaria as coletas.

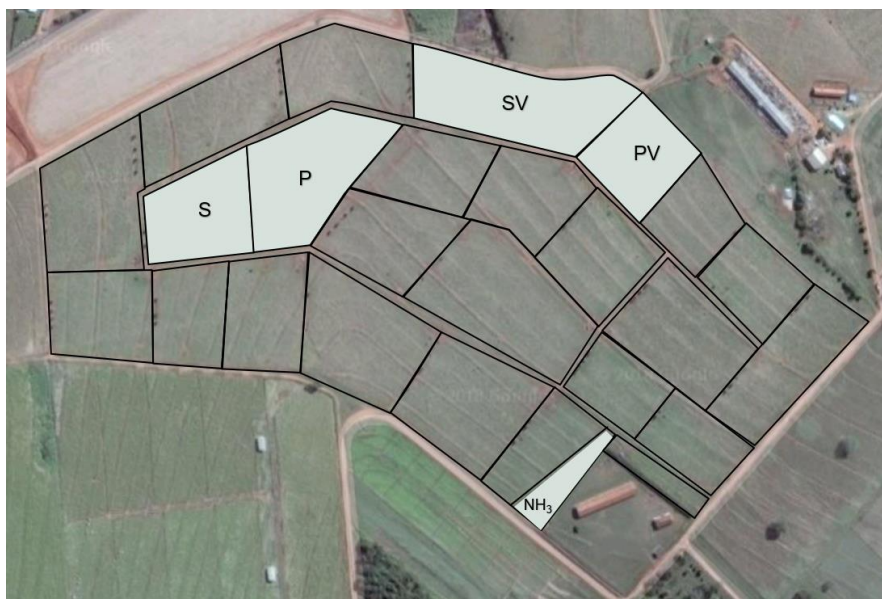


Figura 1. Vista aérea da área experimental. PV = Tratamento com suplementação proteico energética + aditivo, P = Tratamento com suplementação proteico energética sem uso de aditivo, SV = Tratamento com suplementação mineral + aditivo, S = Tratamento com suplementação mineral sem uso de aditivo, NH₃ = Piquete utilizado para as coletas de Amônia volatilizada

Para a correção de nutrientes do solo dos piquetes, foram adicionados de forma homogênea 180 kg de nitrogênio por hectare (ha) na forma de nitrato de amônio (30 g N kg⁻¹) parcelados em três aplicações de acordo com a precipitação, onde a primeira aplicação foi realizada no quinto dia de período experimental, a segunda aplicação foi realizada 45 dias após o início do período experimental e a terceira aplicação foi realizada 82 dias após o início do período experimental. A adubação fosfatada e com potássio foram realizadas de acordo com as análises dos solos (Tabela 1) coletados anteriormente ao início do experimento. As correções de fósforo foram realizadas em uma única aplicação no dia da primeira adubação nitrogenada, utilizando superfosfato simples (18 g de P₂O₅ kg⁻¹) na proporção de 100 kg de P₂O₅ ha⁻¹ e a adubação com potássio foi realizada com cloreto de potássio (58g de K₂O kg⁻¹) nas proporções de 200 kg de K₂O ha⁻¹, parcelada em duas vezes, coincidindo com as duas primeiras adubações nitrogenadas.

Tabela 1 Análise química do solo de cada piquete e seus respectivos tratamentos

Tratamento	P resina	MO	pH CaCl ₂	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	H+A I	SB	CTC	V
	Mg d (m ³)	g dm ⁻³				mmol _c dm ⁻³				%
PV	11	37	5,4	1,5	26	10	28	38	66	57
P	18	34	5,2	5,1	21	10	31	36	67	54
SV	16	42	5,2	2,8	22	12	36	37	73	51
S	16	33	5,4	4,3	21	11	26	36	62	58

Data: 09/08/2018. Camada 0 a 20 cm. P resina = fósforo extraído do solo por resina trocadora de íons (mg dm⁻³ = µg/cm³), MO = matéria orgânica (g dm⁻³ = %, com base em volume de solo x10), pH em CaCl₂ = pH determinado em solução centimolar de cloreto de cálcio, K⁺, Ca²⁺ e Mg²⁺ = respectivamente potássio, cálcio e magnésio trocáveis, (mmol_c/dm³ = cmol_c/dm³ x 10), H+Al = acidez potencial ou total (mmol_c/dm³ = cmol_c/dm³ x 10), SB = soma de bases (Ca²⁺ + Mg²⁺ + K⁺), CTC = capacidade de troca de cátions, ou SB + (H+Al), V = índice de saturação por bases ou V = 100SB/CTC.

2.2. Tratamentos e manejo dos animais

Os tratamentos foram dispostos de acordo com a suplementação fornecida diariamente as 11h aos animais nos respectivos piquetes:

- Suplementação proteico-energética + aditivo fitogênico (PV);
- Suplementação proteico-energética (P);
- Suplementação com sal mineral + aditivo fitogênico (SV);
- Suplementação com sal mineral (S);

O aditivo utilizado foi o produto comercial, denominado Valopro®, com os ingredientes segundo a tabela 2 e composição química segundo a tabela 3.

Tabela 2. Ingredientes dos suplementos fornecidos aos animais dos respectivos tratamentos

Ingredientes	Unidade	Tratamento			
		PV	P	SV	S
Tanino hidrolisável	g kg ⁻¹	1,000		10,000	
Farelo de glúten de milho	g kg ⁻¹	75,829	75,829		
Óxido de zinco	g kg ⁻¹	0,043	0,043		
Sulfato de Zinco	g kg ⁻¹			0,571	0,571
Sulfato de cobre	g kg ⁻¹	0,053	0,053	0,416	0,416
Óxido de magnésio	g kg ⁻¹			0,075	0,068
Monóxido de magnésio	g kg ⁻¹	0,009	0,009	0,091	0,091
Calcário calcítico	g kg ⁻¹	4,807	4,492	5,062	7,237
Caulim	g kg ⁻¹	11,900	13,212		7,786
Sal branco	g kg ⁻¹	5,043	5,043	33,374	33,374
Enxofre	g kg ⁻¹	0,799	0,799	2,923	2,923
Sulfato de cobalto	g kg ⁻¹	0,005	0,007	0,025	0,075
Iodato de cálcio	g kg ⁻¹	0,007	0,007	0,067	0,067
Selenito de sódio	g kg ⁻¹	0,005	0,005	0,031	0,031

Peso total/suplemento: 100 kg.

Tabela 3. Composição dos suplementos fornecidos aos animais dos respectivos tratamentos

Composição	Unidade	Tratamento			
		PV	P	SV	S
Proteína Bruta	g kg ⁻¹	16,000	16,000		
Matéria Mineral	g kg ⁻¹	26,710	27,670	88,100	97,700
NDT	g kg ⁻¹	60,660	60,670		
Cálcio	g kg ⁻¹	2,000	1,800	12,270	12,300
Fosforo	g kg ⁻¹	0,560	0,560	9,000	9,000
Sódio	g kg ⁻¹	2,000	2,000	12,920	12,920
Magnésio	g kg ⁻¹	0,240	0,240	0,500	0,500
Enxofre	g kg ⁻¹	1,000	1,000	3,000	3,000

Manganês	mg kg ⁻¹	235,500	49,600	2359,950	500,000
Zinco	mg kg ⁻¹	525,000	340,260	3849,900	2000,000
Cobalto	mg kg ⁻¹	2,000	1,400	15,000	15,000
Cobre	mg kg ⁻¹	133,500	133,450	1040,000	1040,000
Iodo	mg kg ⁻¹	7,000	7,000	67,000	67,000
Selênio	mg kg ⁻¹	2,250	2,250	14,000	14,000
Óleos essenciais vegetais	mg kg ⁻¹	1,000		10,000	

Peso total/suplemento: 100 kg.

2.3. Variáveis estudadas

As análises dos GEE, fezes e urina foram conduzidas no LANA (Laboratório de Nutrição Animal) e as análises do solo foram realizadas no Laboratório de Forragicultura - Unesp, Campus de Jaboticabal/ SP.

2.3.1. Avaliação das emissões de CH₄ e N₂O

Foram utilizadas seis câmaras por piquete (quatro tratamentos e seis repetições), onde duas câmaras foram colocadas próximo a área de alimentação dos animais (A), duas câmaras foram distribuídas mais ao centro dos piquetes (B) e duas câmaras foram distribuídas mais próximas das cercas (C), totalizando 24 câmaras. Desta forma, além dos tratamentos PV, P, SV e S, tem-se o fator localização das câmaras, que foi analisado separadamente.

Cada câmara foi considerada como uma unidade experimental, distribuídas em quatro piquetes nos quais os animais recebiam diferentes suplementos. Essa estratégia foi adotada de forma a obter uma melhor representação da variação espacial da estrutura do solo no piquete.

O experimento foi composto por três períodos de coleta de gases, totalizados 143 dias. No primeiro período não foram adicionadas excretas as câmaras e os gases do solo foram medidos semanalmente durante 35 dias até a primeira aplicação de excretas. No segundo período foi realizada a primeira aplicação de excretas e as coletas de GEE foram realizadas diariamente durante sete dias, seguida quatro vezes por semana durante duas semanas, três vezes por semana durante duas semanas, duas vezes por semana durante duas semanas e uma vez por semana até a próxima

aplicação, totalizando 64 dias. No terceiro período, foram adicionadas excretas novamente e as coletas foram realizadas diariamente durante sete dias, seguida de quatro vezes por semana durante duas semanas, três vezes por semana durante duas semanas, duas vezes por semana durante duas semanas, totalizando 44 dias.

A urina e fezes utilizadas nos tratamentos foram coletadas diretamente dos animais recebendo os respectivos tratamentos e o volume utilizado foi definido de acordo com o volume médio excretado por evento, relatado por Haynes e Williams (1993).

Inicialmente as excretas foram adicionadas da seguinte forma: nas câmaras localizadas na região central dos piquetes e nas distribuídas aleatoriamente foi adicionado 1,5 kg de fezes frescas em uma das câmaras e 1,5 L de urina em outra câmara. Já nas câmaras alocadas próximas ao cocho, foram adicionadas as duas excretas (1,5 kg de fezes frescas + 1,5 L de urina). De forma a melhor representar o comportamento das excreções dos animais em pastejo. Após 63 dias, foram realizadas novas aplicações de excretas, onde as câmaras que foram adicionadas fezes anteriormente passaram a receber urina e as que foram adicionadas urina, passaram a receber fezes. No caso das câmaras próximas ao cocho, continuou sendo adicionado fezes e urina.

Os fluxos de emissão de CH_4 e N_2O foram quantificados utilizando câmaras estáticas padronizadas (CARDOSO et al., 2019), constituída de uma base de metal medindo 0,60 x 0,40 x 0,25 m que foi inserida a 7 cm de profundidade e uma parte superior de plástico com 25 cm de altura, previamente revestida por isolante térmico era posicionada em cima da base somente no momento da coleta dos gases.

As amostragens foram realizadas entre 9h e 10h como preconizado por Alves et al., (2012), visando representar as emissões médias diárias. Para a realização das coletas, as câmaras foram fechadas durante 30 min e as amostras foram coletadas no tempo 0 min e no tempo 30 min.

As amostras foram coletadas com seringas estéreis de polipropileno de 50 ml e acondicionadas em frascos (frascos de Shimadzu) vedados de 20 ml e pré evacuados a -800 Pa, até posterior leitura das concentrações por cromatografia gasosa gás (Shimadzu Green House Gas Analyzer GC-2014; Kyoto, Japan) em até quinze dias. Concomitantemente as amostragens de gases, foram coletadas as

temperaturas do solo, do interior e de fora das câmaras com auxílio de termômetros digitais.

Os fluxos de N₂O (N-N₂O em µg m⁻² h⁻¹) e CH₄ (C-CH₄ em µg m⁻² h⁻¹) foram corrigidos para as CNTPs (Condições Normais de Temperatura e Pressão) e calculados em função das mudanças de concentração do gás no interior da câmara no período de incubação, de acordo com a seguinte equação:

$$\text{Fluxo do gás} = \delta\text{gas}/\delta T \times M/V_m \times V/A$$

Onde, δgas é o aumento na concentração do gás no período de incubação (µL L⁻¹); δT é o período de incubação (h); M é a massa molar do gás em N ou C; V_m é o volume molecular corrigido pela temperatura e pressão no momento de amostragem (L mol⁻¹); V é o volume da câmara (m³); e A é a área que a câmara cobre (m²).

Os valores observados foram multiplicados por 24, possibilitando determinar as emissões diárias e integrados por interpolação, obtendo-se a emissão cumulativa. Os fluxos negativos foram incluídos nos cálculos para evitar enviesamento nos resultados (VAN DER WEERDEN et al., 2016).

2.3.2. Volatilização de Amônia

As perdas de nitrogênio (N) na forma de amônia (NH₃) pelas fezes, urina e fezes + urina foram medidas em um local com as mesmas características dos piquetes utilizados para as coletas de GEE, porém, sem a presença de animais, utilizando câmaras de coleta de amônia volatilizada, de acordo com a metodologia de Araújo et al., (2009) como descrito por Jantalia et al., (2012).

As coletas foram realizadas utilizando 52 câmaras (13 tratamentos e quatro repetições) de acordo com seguintes os tratamentos:

- 1 kg de fezes dos animais recebendo suplementação proteico-energética + aditivo fitogênico (PVF);
- 1 L de urina dos animais recebendo suplementação proteico-energética + aditivo fitogênico (PVU);

- 1 kg de fezes + 1 L de urina dos animais recebendo suplementação proteico-energética + aditivo fitogênico (PVFU);
- 1 kg de fezes dos animais recebendo suplementação proteico-energética (PF);
- 1 L de urina dos animais recebendo suplementação proteico-energética (PU);
- 1 kg de fezes + 1 L de urina dos animais recebendo suplementação proteico-energética (PFU);
- 1 kg de fezes dos animais recebendo suplementação com sal mineral + aditivo fitogênico (SVF);
- 1 L de urina dos animais recebendo suplementação com sal mineral + aditivo fitogênico (SVU);
- 1 kg de fezes + 1 L de urina dos animais recebendo suplementação com sal mineral + aditivo fitogênico (SVFU);
- 1 kg de fezes dos animais recebendo suplementação com sal mineral (SF);
- 1 L de urina dos animais recebendo suplementação com sal mineral (SU);
- 1 kg de fezes + 1 L de urina dos animais recebendo suplementação com sal mineral (SFU);
- Controle, sem adição de excretas (C).

Após a adição de fezes e urina dos devidos tratamentos, foram realizadas avaliações e coletas de amostras as 17 horas, nos dias: 1, 3, 5, 9, 14 e 21. As coletas foram interrompidas aos 21 dias pois praticamente não houve absorção de NH_3 pelas espumas entre os dias 14 e 21.

Para a coleta e determinação de volatilização da amônia foram utilizadas câmaras coletoras de amônia do tipo SALE (câmara semiaberta livre estática), suspensas a 1,5 cm da superfície do solo, confeccionadas com garrafa de plástico transparente de politereftalato de etileno (PET), com capacidade para 2 L e área de $0,008 \text{ m}^2$. No interior da garrafa PET, foi instalado um sistema absorvedor de amônia, constituído de uma lâmina de espuma de poliuretano ($0,017 \text{ g cm}^3$) com 0,3 cm de espessura, 2,5 cm de largura e 25 cm de comprimento, embebida com solução ácida (H_2SO_4), suspensa verticalmente com o auxílio de um fio rígido de 0,15 cm de

diâmetro. Em um recipiente com capacidade para 50 ml, suspenso pela extremidade inferior do fio rígido, foram adicionados 10 ml de H_2SO_4 1 mol dm^3 e glicerina (2% v/v). Na instalação, a lâmina de espuma foi mantida com a extremidade inferior dentro do recipiente de 50 ml, evitando respingos da solução ácida no substrato. A outra extremidade da espuma permaneceu presa a parte superior do fio rígido, mantendo-a na posição vertical. A determinação do N- NH_3 retido na espuma foi realizada por destilação e titulação, segundo o método de Kjeldhal (Embrapa et al., 2017).

A porcentagem de amônia volatilizada foi calculada pela razão entre o N volatilizado das excretas, corrigido pela volatilização do tratamento controle e o N aplicado. O valor total perdido foi ajustado para a área afetada por cada tipo de excreta. O diâmetro médio da placa de fezes foi de 17 cm e da poça de urina 24 cm.

2.3.3. Parâmetros do solo e meteorológicos

Foram coletadas amostras de solo ao lado das câmaras com 10 cm de diâmetro e 5 cm de altura para determinação da densidade do solo em mg m^{-3} (tabela 4). As amostras foram secas a 105 ° C por 48 horas e, posteriormente a porosidade do solo foi calculada dividindo a densidade do solo pela densidade de partículas estimada em 2,65.

Tabela 4. Densidade do solo e volume total de poro dos respectivos tratamentos

		Densidade do solo	Volume total de poros
		mg m^{-3}	$\text{m}^{-3} \text{m}^{-3}$
PV	A	1,46	44,78
	A	1,36	48,78
	B	1,53	42,13
	B	1,55	41,62
	C	1,43	46,01
	C	1,46	45,06
P	A	1,75	33,95
	A	1,70	35,72
	B	1,44	45,75
	B	1,40	47,04
	C	1,57	40,68
	C	1,50	43,50
SV	A	1,41	46,96

	A	1,26	52,37
	B	1,55	41,58
	B	1,51	42,84
	C	1,52	42,76
	C	1,51	43,01
S	A	1,63	38,60
	A	1,40	47,34
	B	1,26	52,44
	B	1,41	46,98
	C	1,70	35,91
	C	1,51	43,17

PV = Suplementação proteico-energética + aditivo fitogênico; P = Suplementação proteico-energética; SV = Suplementação com sal mineral + aditivo fitogênico; S = Suplementação com sal mineral. A = Câmaras próximas a área de alimentação dos animais; B = Câmaras localizadas na região central dos piquetes; C = Câmaras localizadas nas laterais dos piquetes.

Semanalmente ao longo do experimento foram coletadas amostras de solo de 0 a 10 cm de profundidade, para as análises de umidade e N mineral (amônio e nitrato). As umidades das amostras foram determinadas pelo método gravimétrico utilizando 10 g de solo. A umidade volumétrica e o Espaço Poroso Saturado com água (% EPSA) foram calculados usando a densidade do solo e a densidade das partículas ($2,65 \text{ g cm}^{-3}$). Para a realização das análises de N mineral, 10g de solo foram misturadas a 50mL 2M KCl e agitadas por 30 min a 240 rpm (rotações por minuto) e filtradas. A solução filtrada foi congelada até a determinação de N-nitrato (mais N-nitrito), e N-amônio. Para determinação de amônio (NH_4^+) e nitrato (NO_3^-) foram utilizadas a reação de Berthelot (FORSTER, 1995) e redução pelo cloreto de vanádio-III (DOANE et al., 2003), respectivamente.

Os dados de precipitação diária foram obtidos de um conjunto de dados pertencentes ao acervo da área de Agrometeorologia do Departamento de Ciências Exatas que fica próximo à área experimental.

2.3.4. Análises de fezes e urina

As amostras de urina e fezes foram secas em estufa a 105° C , determinando os teores de matéria seca (AOAC, 1980), posteriormente as fezes foram trituradas em moinho tipo Willey e foram feitas as determinações de N total das fezes e urina

separadamente e teores de C total por combustão a seco em analisador LECO CR-412, N total (PARKINSON et al., 1975).

O pH da urina foi determinado com auxílio de um pHmetro e a ureia da urina foi determinada utilizando um kit comercial (Gold Analisa).

Tabela 5. Porcentagem de MS, concentração de C e N nas fezes utilizadas nos tratamentos do solo dos períodos experimentais e utilizados para a verificação de amônia volatilizada

		MS	C	N	Relação C/N
Tratamento		%	g kg ⁻¹	g kg ⁻¹	
1ª aplicação	PV	11,35	384,12	22,90	16,77
	P	10,61	398,70	24,25	16,44
	SV	11,20	411,46	24,45	16,83
	S	11,24	389,19	23,50	16,56
2ª aplicação	PV	11,24	383,36	24,20	15,84
	P	11,89	401,17	24,90	16,11
	SV	10,46	404,00	23,90	16,90
	S	10,88	401,16	23,75	16,89
Volatilização de Amônia	PV	13,87	355,03	23,10	15,37
	P	12,29	308,19	21,20	14,54
	SV	10,83	395,17	24,17	16,35
	S	11,47	397,16	24,45	16,24

PV = Suplementação proteico-energética + aditivo fitogênico; P = Suplementação proteico-energética; SV = Suplementação com sal mineral + aditivo fitogênico; S = Suplementação com sal mineral.

Tabela 6. Concentração de Uréia, pH, porcentagem de MS, concentração de C e N nas urinas utilizadas nos tratamentos do solo dos períodos experimentais e utilizados para a verificação de amônia volatilizada

		Uréia	pH	MS	C	N
Tratamento		mg/dl		%	g L ⁻¹	g L ⁻¹
1ª aplicação	PV	55,5	7,67	1,96	2,85	2,36
	P	35,0	8,36	1,73	2,00	1,75
	SV	32,0	8,24	1,03	1,15	1,21
	S	58,5	8,29	1,36	2,50	2,02
2ª aplicação	PV	145,0	7,59	3,23	11,45	6,61
	P	87,0	7,69	2,42	5,60	1,97
	SV	99,0	7,58	2,44	7,30	4,47
	S	75,5	7,54	2,00	5,00	3,32
Volatilização de Amônia	PV	84,0	8,62	2,51	9,45	5,28
	P	78,0	8,60	1,96	3,25	2,36
	SV	171,5	8,66	2,14	11,60	6,91
	S	172,0	8,64	1,08	4,20	2,50

PV = Suplementação proteico-energética + aditivo fitogênico; P = Suplementação proteico-energética; SV = Suplementação com sal mineral + aditivo fitogênico; S = Suplementação com sal mineral.

Powell et al., (2011a), em estudos com bovinos leiteiros, observaram que os taninos podem reduzir a excreção de ureia e tem capacidade de reduzir a atividade da urease nas fezes (Powell et al., 2011b), indicando que a excreção de N pode ser alterada e que a adição de taninos nas dietas podem melhorar o aproveitamento de N no organismo dos animais. Em nosso estudo, os valores de ureia da urina de animais que consumiram suplemento proteico energético são maiores que em relação aos valores de ureia de animais que consumiram sal, porém o uso de aditivo fitogênico não influenciou nos valores de ureia, o que pode demonstrar que o aproveitamento de N pode estar mais relacionado ao tipo de suplementação do que ao uso de aditivos fitogênicos.

Após a obtenção do N total das fezes e urina dos tratamentos, foi calculado a quantidade de N aplicado por câmara (Tabela 7).

Tabela 7. Quantidade de N aplicado por aplicação nas câmaras de gases de efeito estufa e nas câmaras de volatilização de amônia

		1ª Aplicação	2ª Aplicação
		g de N/ câmara	
PV	A	8,09	14,29
	B	4,25	9,92
	C	3,84	4,36
P	A	6,63	5,35
	B	4,11	0,53
	C	2,52	4,82
SV	A	6,25	10,56
	B	4,38	6,59
	C	1,87	3,97
S	A	7,63	9,69
	B	4,53	4,94
	C	3,10	4,75
Volatilização de amônia	PVF		2,20
	PVU		1,27
	PVFU		3,48
	PF		2,26
	PU		0,58
	PFU		2,84
	SVF		1,62
	SVU		1,60
	SVFU		3,22
	SF		1,84
	SU		0,60

SFU	2,44
C	0,00

PV = Suplementação proteico-energética + aditivo fitogênico; P = Suplementação proteico-energética; SV = Suplementação com sal mineral + aditivo fitogênico; S = Suplementação com sal mineral. A = Câmaras próximas a área de alimentação dos animais; B = Câmaras localizadas na região central dos piquetes; C = Câmaras localizadas nas laterais dos piquetes; PVF = Fezes dos animais suplementados com proteico-energético + aditivo fitogênico; PVU = Urina dos animais suplementados com proteico-energético + aditivo fitogênico; PVFU = Fezes e urina dos animais suplementados com proteico-energético + aditivo fitogênico; PF = Fezes dos animais suplementados com proteico-energético; PU = Urina dos animais suplementados com proteico-energético; PFU = Fezes e urina dos animais suplementados com proteico-energético; SVF = Fezes dos animais suplementados com sal + aditivo fitogênico; SVU = Urina dos animais suplementados com sal + aditivo fitogênico; SVFU = Fezes e urina dos animais suplementados com sal + aditivo fitogênico; SF = Fezes dos animais suplementados com sal; SU = Urina dos animais suplementados com sal; SFU = Fezes e urina dos animais suplementados com sal; C = Sem adição de excretas.

3. Delineamento experimental e análises estatísticas

Os delineamentos utilizados foram inteiramente ao acaso (DIC).

Para a análise dos fluxos dos GEE, foram considerados os tratamentos: A, B e C, com oito repetições por tratamento e PV, P, SV e S, com seis repetições por tratamento.

Para as análises de N mineral, foram considerados dois tratamentos: A, B e C, com oito repetições por tratamento e PV, P, SV e S, com seis repetições por tratamento.

Para a análise de perdas por volatilização de amônia, foram considerados os tratamentos PVF, PVU, PVFU, PF, PU, PFU, SVF, SVU, SVFU, SF, SU, SFU e C com quatro repetições por tratamento.

Os fluxos dos GEE, o N mineral e a volatilização de amônia foram integrados, submetidos a ANOVA após teste de normalidade (teste de Shapiro-Wilk) e homocedasticidade (teste de Bartlett) utilizando o programa estatístico R, versão 3.4.4 (2018). Quando a ANOVA foi significativa, foi realizado o teste de Tukey-HSD ($P > 0,05$) para distinguir diferenças entre as médias dos tratamentos.

A correlação entre as emissões dos GEE, N mineral, pluviosidade e umidade do solo foram analisadas utilizando o programa estatístico R, versão 3.4.4 (2018).

4. Resultados e discussão

4.1. Temperatura e precipitação

Os dados meteorológicos do experimento foram obtidos no banco de dados da Estação Agrometeorológica do Departamento de Ciências Exatas da UNESP – Campus de Jaboticabal, como demonstrado na Figura 2.

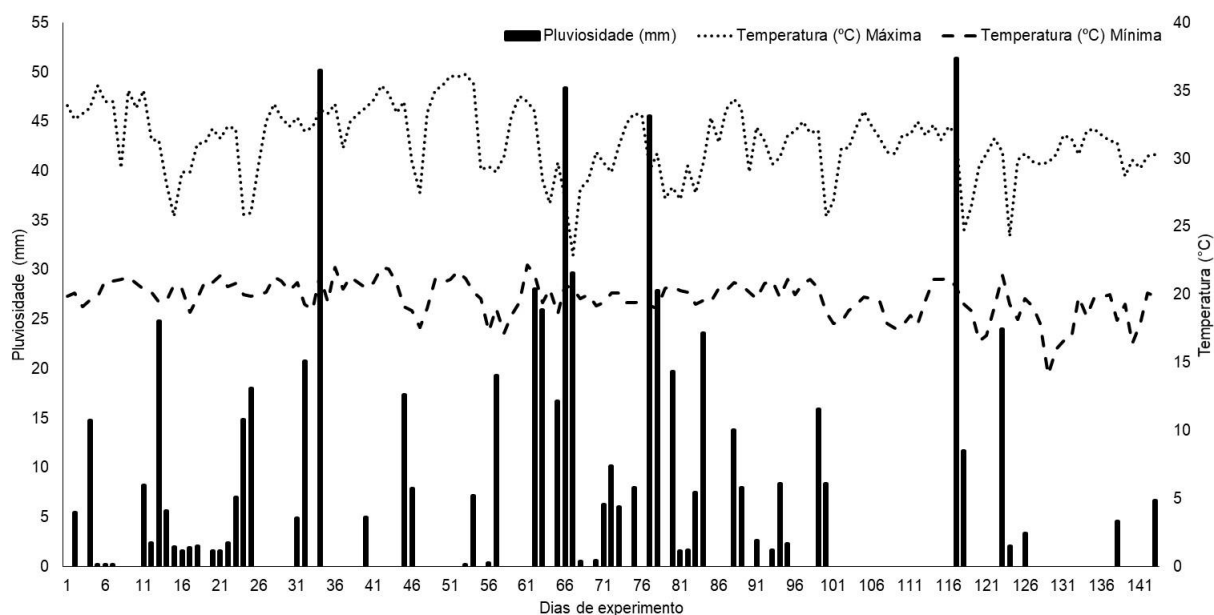


Figura 2. Dados de precipitação e temperaturas da UNESP – Campus de Jaboticabal para o período de dezembro de 2018 a abril de 2019

Durante o período experimental, a temperatura máxima variou de 21,8 a 36,2 ° C, a temperatura mínima variou de 9,9 a 21,2 ° C e a temperatura média variou de 15,5 a 28,7 ° C. Em média as temperaturas máxima, mínima e média foram 30,8, 19,1 e 24,1 ° C respectivamente. A precipitação total durante o período experimental foi de 721 mm.

4.2. Emissões de N₂O

Os fluxos de N₂O são consideravelmente maiores logo após a aplicação de excretas em todos os tratamentos nas duas aplicações realizadas. Nota-se que as

adubações nitrogenadas não interferiram de maneira considerável nos fluxos de óxido nítrico (Figura 3).

A comparação dos fluxos por métodos de suplementação animal (Figura 3), observada em (Figura 3a) evidencia que os valores referentes aos tratamentos PV e P são muito próximos e em geral os fluxos são maiores que os observados em SV e S.

Verifica-se em (Figura 3b) que os fluxos de óxido nítrico das câmaras próximas a áreas de alimentação dos animais são mais instáveis, enquanto no caso das câmaras dispostas ao centro dos piquetes e nas áreas marginais são estáveis. Esse fato pode estar relacionado a maior deposição de excretas pelos animais nas áreas de cocho.

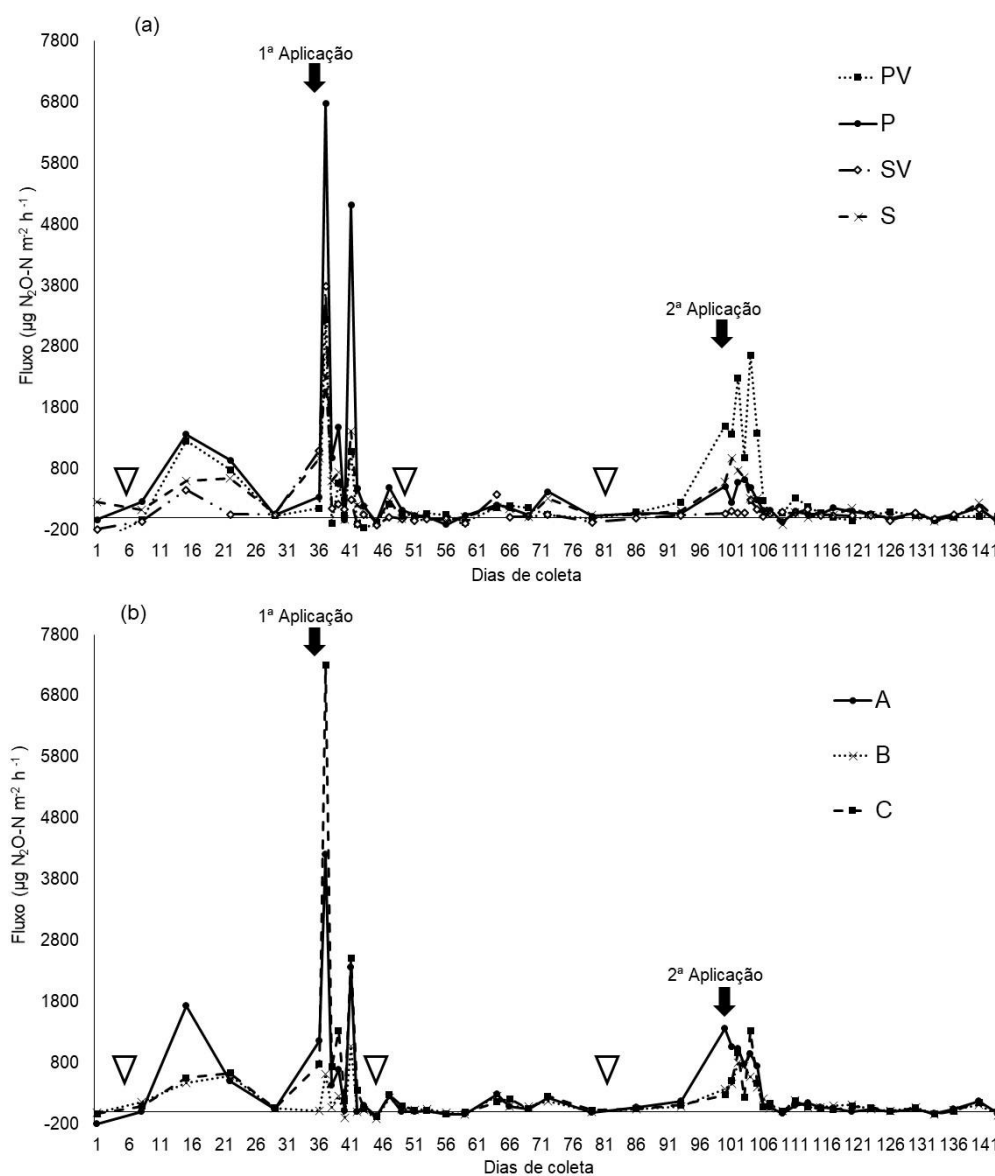


Figura 3. Fluxos de óxido nitroso ($\mu\text{g N}_2\text{O-N m}^{-2} \text{ h}^{-1}$) de excretas de bovinos em pastagem de capim Marandu durante 143 dias, provenientes de animais recebendo diferentes tipos de suplementação (a) e diferentes localizações do piquete (b). ▽ = adubação. PV = Suplementação proteico-energética + aditivo fitogênico; P = Suplementação proteico-energética; SV = Suplementação com sal mineral + aditivo fitogênico; S = Suplementação com sal mineral. A = Câmaras próximas a área de alimentação dos animais; B = Câmaras localizadas na região central dos piquetes; C = Câmaras localizadas nas laterais dos piquetes

Houve diferença significativa entre emissões das excretas dos animais recebendo suplementação (Tabela 8), onde as emissões em cada período e totais das excretas dos animais recebendo suplemento proteico energético e proteico energético + aditivo fitogênico foram maiores que as excretas dos animais que foram suplementados com sal mineral e sal mineral + aditivo fitogênico. As excretas dos animais recebendo suplementação mineral com aditivo foram as que emitiram menos durante todo o período experimental.

Tabela 8. Emissões de N_2O provenientes das excretas de animais recebendo diferentes tipos de suplementação

	1º Período	2º Período	Total
PV	8,89 b	12,68 a	21,58 a
P	21,12 a	5,18 b	26,30 a
SV	6,35 b	2,81 b	9,17 b
S	10,96 ab	5,46 b	16,42 ab
p Valor	0,007	>0,001	0,004

Valores em $\text{mg N}_2\text{O-N m}^{-2}$. 1º Período = 64 dias; 2º Período = 44 dias; Total = 143 dias. PV = Suplementação proteico-energética + aditivo fitogênico; P = Suplementação proteico-energética; SV = Suplementação com sal mineral + aditivo fitogênico; S = Suplementação com sal mineral.

Quando consideradas as emissões do primeiro período e totais de óxido nitroso em relação a localização das câmaras, também houve diferença significativa (Tabela 9), pode-se verificar que as emissões das câmaras localizadas mais ao centro dos piquetes emitem menos N_2O , enquanto as localizadas na região marginal emitem mais N_2O e as câmaras localizadas próximas ao cocho apresenta valor intermediário. Porém esse fato não pode ser observado no segundo período de aplicação ($p = 0,621$). A menor emissão das câmaras localizadas na região central do piquete pode estar relacionada a solos menos compactados e com presença da forrageira de forma homogênea, sendo que no caso de áreas ao redor dos piquetes na maioria dos casos é utilizada como área de locomoção pelos animais, além de possuir área de cobertura

do solo mais prejudicada. No caso da área próxima ao cocho, uma possível justificativa é que mesmo que possivelmente o solo seja mais compactado, há a presença de umidade, favorecida pelos dejetos dos animais.

Tabela 9. Emissões de N₂O provenientes das excretas de animais em diferentes localizações do piquete

	1º Período	2º Período	Total
A	12,91 ab	7,80	20,72 ab
B	5,33 b	5,74	11,07 b
C	17,26 a	6,05	23,32 a
p Valor	0,012	0,621	0,015

Valores em mg N₂O-N m⁻². 1º Período = 64 dias; 2º Período = 44 dias; Total = 143 dias. A = Câmaras próximas a área de alimentação dos animais; B = Câmaras localizadas na região central dos piquetes; C = Câmaras localizadas nas laterais dos piquetes.

A produção de N₂O é determinada pelos processos de nitrificação e desnitrificação. A nitrificação ocorre pela oxidação de NH₄⁺ a NO₃⁻ e a desnitrificação ocorre a partir da redução de NO₃⁻ ao N₂, sendo o óxido nítrico um produto intermediário desses processos (Lee et al., 2006; Liu et al., 2007). A nitrificação é dependente de condições aeróbicas e ação de microrganismos autotróficos do gênero *Nitrosomonas* e *Nitrospira*, já a desnitrificação ocorre em anaerobiose, sendo que os dois processos são muito dependentes de umidade, temperatura, disponibilidade de matéria orgânica e concentração de N no solo.

Os fluxos de N₂O de todos os tratamentos se aproximam de estudos obtidos anteriormente (de Klein et al., 2003; Sordi et al., 2013; Lessa et al., 2014; Cardoso et al., 2019; Bretas et al., 2020), demonstrando que os picos de emissão provenientes de excretas ocorrem dentro de sete dias após a aplicação.

No primeiro período de aplicação, os fluxos de N₂O dos tratamentos contendo aditivo fitogênico foram menores, demonstrando que os aditivos fitogênicos podem apresentar ação sobre os microrganismos presentes nas excretas e no solo. Após a segunda aplicação, esse fato não foi observado e as maiores emissões ocorreram no tratamento contendo excretas de animais suplementados com proteico energético e aditivo fitogênico, esse fato pode ser justificado pela adaptação dos microrganismos do solo aos aditivos fitogênicos que após essa adaptação, as excretas com maiores disponibilidade de N (de Klein et al., 2014) proporcionaram condições favoráveis para

a desnitrificação e consequentemente a produção de N₂O (Jiang et al., 2011). Sordi et al. (2014).

Pode-se observar que as variações nos fluxos diários são muito influenciadas pela umidade e temperatura do solo ao longo dos períodos e foram os principais determinantes nas emissões de GEE das excretas (Rochette et al., 2014), além de influenciar diretamente no desenvolvimento de microrganismos (Pietikäinen et al., 2005).

A redução da umidade do solo diminui a biomassa microbiana total, diminuindo consequentemente a comunidade microbiana do solo (Ren et al., 2018). Considerando que a temperatura ideal para o desenvolvimento de microrganismos no solo varia de 25 a 30 ° C e que temperaturas fora dessa faixa podem reduzir a atividade microbiana (Pietikäinen et al., 2005), durante o período experimental houveram variações na temperatura que podem ter influenciado as emissões de GEE devido a alterações na atividade microbiana do solo.

A influência da presença de umidade e temperatura, somadas as deposições das excretas, justificam as maiores emissões de N₂O logo após as deposições das excretas no solo, ocorrendo uma maior disponibilidade de nutrientes para o desenvolvimento dos microrganismos.

Nesse estudo nós não avaliamos a diversidade microbiana das fezes, porém, a composição das fezes, que é influenciada pela dieta dos animais, altera a diversidade microbiana presente nas fezes e aumentos na disponibilidade de N em dietas aumentam as emissões de GEE (Jost et al., 2013; Norris et al., 2020)

Nossos dados também demonstram que maiores disponibilidades de nutrientes nas dietas proporcionam maiores emissões de GEE, pudemos observar que as emissões totais de N₂O de excretas de animais que não consumiram suplemento proteico energético são menores em relação as emissões provenientes de excretas de animais consumindo alimento proteico energético, podendo ser justificada pela menor disponibilidade de N na dieta e consequentemente menores perdas de N nas excretas. O tratamento das excretas de animais que não consumiram alimento proteico energético e foram suplementados com sal + aditivo fitogênico foi o que apresentou valores mais baixos das emissões totais de N₂O, demonstrando que o uso de aditivos fitogênicos pode ser uma alternativa para a diminuição nas emissões de N₂O, assim como mencionado por (2017) e Yang et al., (2016).

O uso de aditivo fitogênico influenciou nas emissões de N_2O , porém as emissões também foram fortemente influenciadas pela localização das câmaras.

4.3. Emissões de CH_4

Observa-se que os fluxos de metano não apresentam alterações evidentes de acordo com a frequência de adubação (Figura 4). Além disso, em (Figura 4a), os dois maiores picos de produção de metano são referentes as excretas de animais que não receberam aditivo fitogênico no suplemento, sendo que esse fato ocorreu somente no primeiro período de aplicação, já no segundo período esse fato não foi observado.

A análise dos dados apresentados em (Figura 4b) evidenciam que os fluxos negativos ocorreram com mais frequência nas câmaras próximas ao cocho. No primeiro período os picos de produção de metano foram maiores nas áreas próximas ao cocho e centralizadas nos piquetes, enquanto no segundo período o maior pico de produção foi observado nas câmaras dispostas nas regiões marginais dos piquetes.

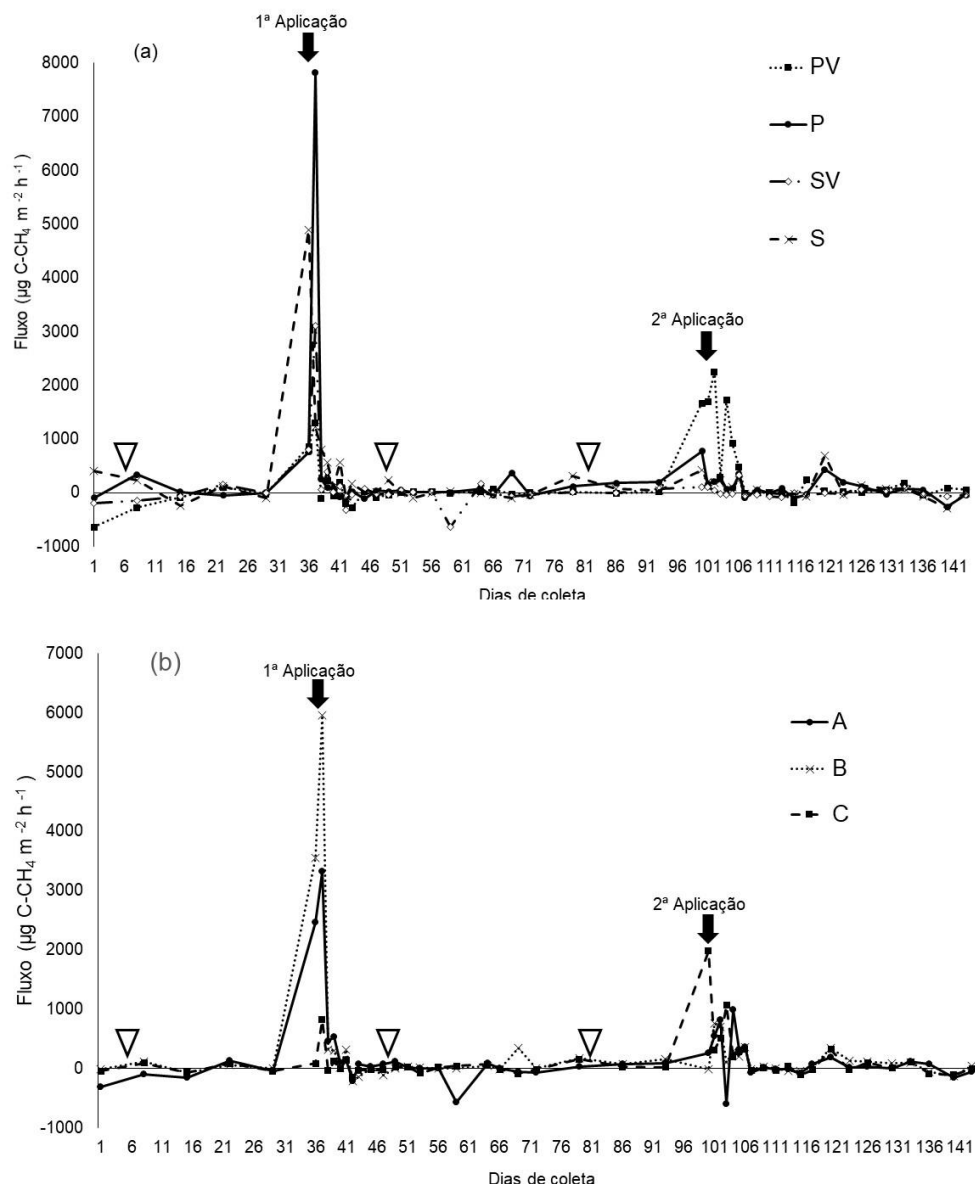


Figura 4. Fluxos de CH_4 ($\mu\text{g C-CH}_4 \text{ m}^{-2} \text{ h}^{-1}$) de excretas de bovinos em pastagem de capim Marandu durante 143 dias, provenientes de animais recebendo diferentes tipos de suplementação (a) e diferentes localizações do piquete (b). ∇ = adubação. PV = Suplementação proteico-energética + aditivo fitogênico; P = Suplementação proteico-energética; SV = Suplementação com sal mineral + aditivo fitogênico; S = Suplementação com sal mineral. A = Câmaras próximas a área de alimentação dos animais; B = Câmaras localizadas na região central dos piquetes; C = Câmaras localizadas nas laterais dos piquetes

Houve diferença significativa entre emissões das excretas dos animais recebendo suplementação (Tabela 10), sendo que as emissões totais das excretas dos animais do tratamento SV apresentaram os valores mais baixos, seguida das emissões das excretas dos tratamentos PV e S e o tratamento SV emitiu mais metano.

No primeiro período não foram observadas diferenças nas emissões dos tratamentos e no segundo período as excretas dos animais que foram suplementados com a formulação proteico energética emitiram mais metano em relação aos outros tratamentos.

Tabela 10. Emissões de CH₄ provenientes das excretas de animais recebendo diferentes tipos de suplementação

	1º Período	2º Período	Total
PV	46,22 b	253,73 a	299,95 ab
P	295,98 a	82,31 b	378,30 a
SV	53,56 b	2,57 b	56,13 b
S	265,70 a	71,60 b	337,30 ab
p Valor	0,033	>0,001	0,021

Valores em mg C-CH₄ m⁻². 1º Período = 64 dias; 2º Período = 44 dias; Total = 143 dias. PV = Suplementação proteico-energética + aditivo fitogênico; P = Suplementação proteico-energética; SV = Suplementação com sal mineral + aditivo fitogênico; S = Suplementação com sal mineral.

Considerando as emissões de metano de acordo com localização das câmaras (Tabela 11), não houve diferenças significativas no segundo período tampouco nas emissões totais. No primeiro período a emissão do tratamento C foi menor, seguida do tratamento B e A.

Tabela 11. Emissões de CH₄ provenientes das excretas de animais em diferentes localizações do piquete

	1º Período	2º Período	Total
A	147,45 ab	80,05	227,50
B	296,87 a	102,26	399,13
C	51,78 b	125,35	177,13
p Valor	0,041	0,774	0,077

Valores em mg C-CH₄ m⁻². 1º Período = 64 dias; 2º Período = 44 dias; Total = 143 dias. A = Câmaras próximas a área de alimentação dos animais; B = Câmaras localizadas na região central dos piquetes; C = Câmaras localizadas nas laterais dos piquetes.

A produção de CH₄ proveniente das excretas dos animais é dependente principalmente de temperatura e umidade (Bolan et al., 2004)., ocorrendo pela degradação do material orgânico em CH₄, e outros componentes. Quando depositadas no solo, as fezes criam um microambiente, proporcionando ambiente favorável para microrganismos anaeróbicos produzirem o CH₄.

Cardoso et al. (2017) evidência que a umidade, compactação do solo e, principalmente adição de fezes proporcionam maiores emissões de CH₄ e o volume

urinário não interfere em mudanças dos fluxos de CH₄, visto que a deposição de matéria orgânica é menor.

O padrão de emissão de CH₄ após a deposição das excretas deste estudo (Figura 4a e b) foi semelhante ao observado por Cardoso et al., (2018) e Bretas et al., (2020) em pastagens tropicais. Nos dois estudos, as emissões de CH₄ são maiores logo após a deposição das excretas. Outros estudos relacionados as emissões de CH₄ e uso de excreta também observaram que os fluxos são maiores após a deposição no solo (Saggar et al., 2004; Mazzeto et al., 2014; Mori e Hojito, 2015). Isso ocorre porque as excretas ainda estão úmidas e as fezes ainda não formaram uma camada enrijecida, garantindo condições adequadas para a metanogênese, pois a produção de CH₄ ocorre em um ambiente anaeróbico e também é dependente de umidade (Gao et al., 2014).

Embora eventos de precipitação tenham sido observados durante os dois períodos, as fezes tendem a formar uma crosta durante o processo de secagem, reduzindo a captação de umidade. Como podemos observar na Figura 4a e b, a umidificação das excretas causada pela chuva não proporciona o aumento nas emissões de CH₄, visto que isso só ocorre antes que as excretas sequem naturalmente (Mazzeto et al., 2014 e Mori e Hojito, 2015).

Sabe-se que a composição da dieta fornecida aos animais influencia características químicas e físicas do solo (Muir, 2011) e dietas com menor teor de PB contribuem com menos N para a ciclagem de nutrientes (Powell et al., 2006). Pelster et al. (2016), constatou que o teor de N no esterco influencia nas frações orgânicas excretadas pelos animais, principalmente os sólidos voláteis, resultando em maiores emissões de CH₄.

Nesse estudo esse fato também pode ser observado, onde as emissões das excretas do tratamento com animais recebendo suplementação proteico energética sem o uso de aditivo fitogênico apresentou maiores emissões, principalmente no primeiro período de aplicação. Nesse período, os tratamentos de excretas de animais que foram suplementados com proteico energético + aditivo fitogênico e sal + aditivo fitogênico apresentaram valores menores, provavelmente esse fato se deve ao uso de aditivos fitogênicos atuarem sobre microrganismos gram-positivos, afetando diretamente a produção de metano (Guimarães-Beelen et al., (2006), Patra et al., 2011); Neubauer et al., 2018).

Após a segunda aplicação de excretas, o tratamento com excretas de animais suplementados com proteico energético + aditivos fitogênicos apresentou os valores mais elevados, enquanto os outros tratamentos não diferiram entre si, esse fato pode estar relacionado a adaptação dos microrganismos ao aditivo fitogênico (de Klein et al., 2014). O tratamento contendo excretas de animais que consumiram sal + aditivo fitogênico apresentou valores menores durante todo o período, podendo ser justificado pelo fato de além da presença do aditivo fitogênico, a disponibilidade de N nas excretas ser menor, pois os animais não consumiram o alimento proteico energético.

Ao observarmos as emissões de CH₄ de acordo com a localização (Figura 4b e Tabela 11), podemos constatar que não houveram diferenças significativas nas emissões totais entre os tratamentos, porém, no primeiro período, as emissões de CH₄ das câmaras localizadas nas regiões marginais dos piquetes apresentou valores menores, podendo ser explicado por serem áreas com maior densidade de solo e menor volume de poros, limitando o desenvolvimento de microrganismos. As emissões de CH₄ das regiões do centro dos piquetes tendem a ser maiores, pois as condições são mais favoráveis devido a maior presença da forragem e maior deposição de liteira.

4.4. Volatilização de amônia

A volatilização de amônia no início da aplicação das excretas foi menor no tratamento S em relação aos outros tratamentos (Figura 6a), porém, essa diferenciação não ocorreu no restante do período observado. A volatilização de amônia da urina em relação aos tratamentos com fezes e fezes urina (Figura 6b) foi nitidamente maior, principalmente em relação ao primeiro dia de aplicação das excretas, posteriormente a volatilização de urina tende a igualar-se com a volatilização das fezes e fezes+urina.

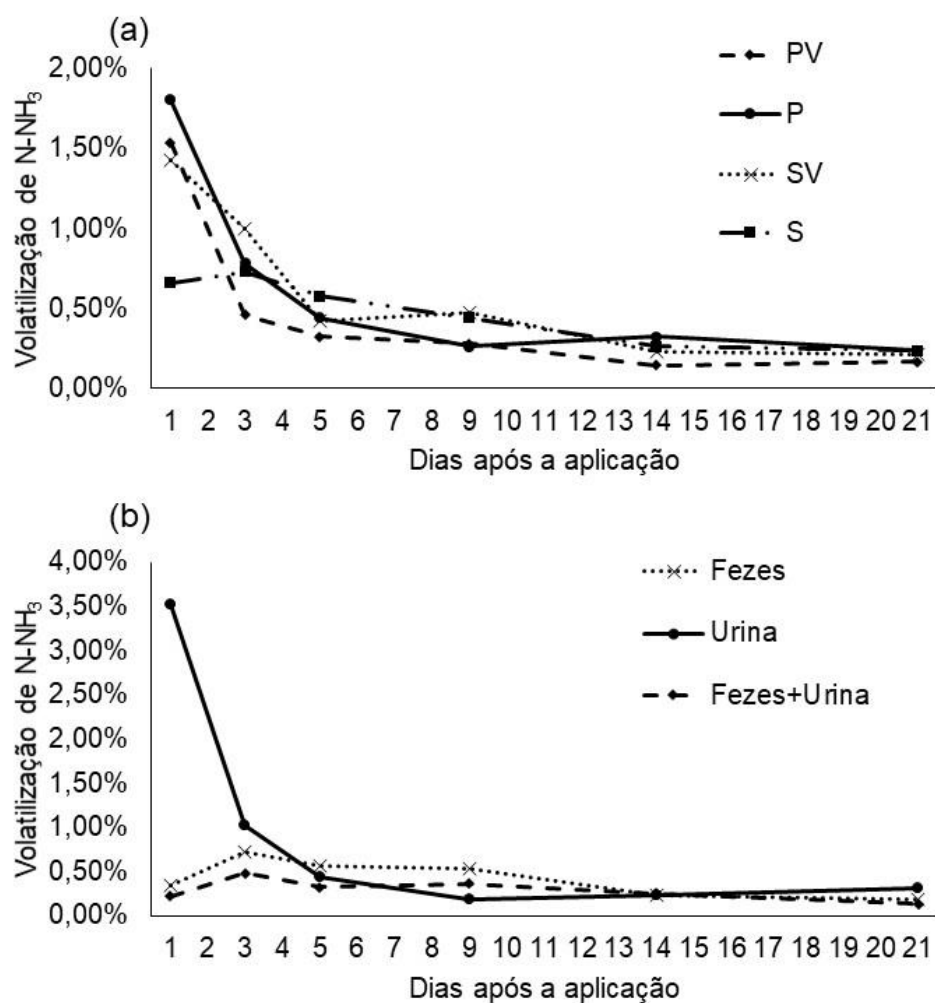


Figura. 6. Volatilização cumulativa de amônia em N-NH₃ de diferentes suplementações fornecidas aos animais (a) e de excretas de bovino (b) em um período de 21 dias. PV = Suplementação proteico-energética + aditivo fitogênico; P = Suplementação proteico-energética; SV = Suplementação com sal mineral + aditivo fitogênico; S = Suplementação com sal mineral.

A quantidade de N-NH₃ volatilizada não variou de acordo com o tipo de suplemento ($p = 0,231$), mas variou com o tipo de excreta ($p > 0,001$). A volatilização de amônia pelas excretas independe da suplementação dos animais, onde a volatilização de urina é maior que das fezes e fezes + urina (Tabela 12).

Tabela 12. Volatilização de amônia (% de N aplicado período de 21 dias na forma de amônia) de urina, fezes e fezes + urina dos tratamentos PV, P, SV e S

Tratamento	Urina	Fezes	Fezes + Urina	Média geral
PV	5.29	1.93	1.49	2.90

P	6.64	2.19	1.87	3.57
SV	6.02	3.41	1.83	3.75
S	4.08	2.73	1.88	2.90
Média	5.51 a	2.57 b	1.77 b	

PV = Suplementação proteico-energética + aditivo fitogênico; P = Suplementação proteico-energética; SV = Suplementação com sal mineral + aditivo fitogênico; S = Suplementação com sal mineral.

A volatilização de N-NH₃ ocorreu mais intensamente nos primeiros cinco dias após a aplicação das excretas, sendo que nove dias após a aplicação a volatilização média foi menor que 0,4%. No caso da urina, a volatilização foi intensa no primeiro dia (3,52%) e posteriormente diminuiu rapidamente. A volatilização das fezes e fezes + urina não diferiram entre elas e foram menores que da urina. Em relação as fezes e fezes + urina, as volatilizações foram menores que da urina e mais uniformes durante o período observado.

Comparando-se os tratamentos com os métodos de suplementações, observa-se que não houve diferença durante todo período observado.

Os dados obtidos nesse estudo corroboram com os estudos anteriores (Saarijärvi et al., 2006; Laubach et al., 2013; Lessa et al., 2014; Cardoso et al., 2019; Bretas et al., 2020). Nesses estudos, a volatilização de NH₃ proveniente das fezes foi menor que da urina, apresentando perdas de 3,6 a 30,4% provenientes da urina e 1,2 a 7,2% provenientes das fezes. A volatilização de amônia é influenciada por condições edafoclimáticas, podendo apresentar grandes diferenças nos valores observados, porém, a volatilização da amônia proveniente da ureia é sempre maior, esse fato pode estar relacionado as fezes formarem uma camada mais rígida, principalmente em sua superfície, evitando as perdas de N, além disso, Cardoso et al., (2015) observaram que o N originário da urina é mineralizado ou nitrificado basicamente nos primeiros três dias após adição de excretas, facilitando as perdas por volatilização de amônia, enquanto o N originário das fezes demora mais para ser mineralizado e nitrificado, ocorrendo em até sete dias.

Nós observamos que as perdas de N por volatilização de amônia da urina apresentaram valores maiores principalmente nos três primeiros dias, enquanto as perdas por volatilização dos tratamentos contendo fezes e fezes + urina foram mais

estáveis durante todo o período de coleta, isso pode ter ocorrido devido a urina apresentar maior disponibilidade de N solúvel do que as fezes.

O tratamento contendo fezes + urina não apresentou diferença em relação ao tratamento contendo somente fezes, 1,77% e 2,56% respectivamente, porém, Cardoso et al. (2019) observou condições opostas, tanto em período de seca quanto em período chuvoso.

A suplementação dos animais com proteico energético e uso de aditivo fitogênico não influenciou na volatilização de amônia, desta forma, o suplemento não forneceu condições suficientes para maximizar as perdas na forma de NH_3^- e os aditivos fitogênicos não tiveram efeitos inibitórios no processo de volatilização de amônia.

As emissões obtidas nesse experimento são inferiores ao valor padrão sugerido pelo IPCC nas diretrizes revisadas, que consideram que 20% de N dos excrementos são perdidos por volatilização do NH_3^- , independentemente do tipo de excreta, suplementação ou uso de aditivo.

4.5. N mineral

As concentrações de N-NO_3^- e N-NH_4^+ estão intimamente relacionadas a pluviosidade, temperatura e a adubação. Pode-se verificar nas Figuras 7 e 8 que logo após as adubações, ocorridas nos dias 5, 45 e 82 do experimento, os valores de N-NO_3^- e N-NH_4^+ foram maiores e decrescem com o decorrer do tempo até que ocorresse a próxima adubação.

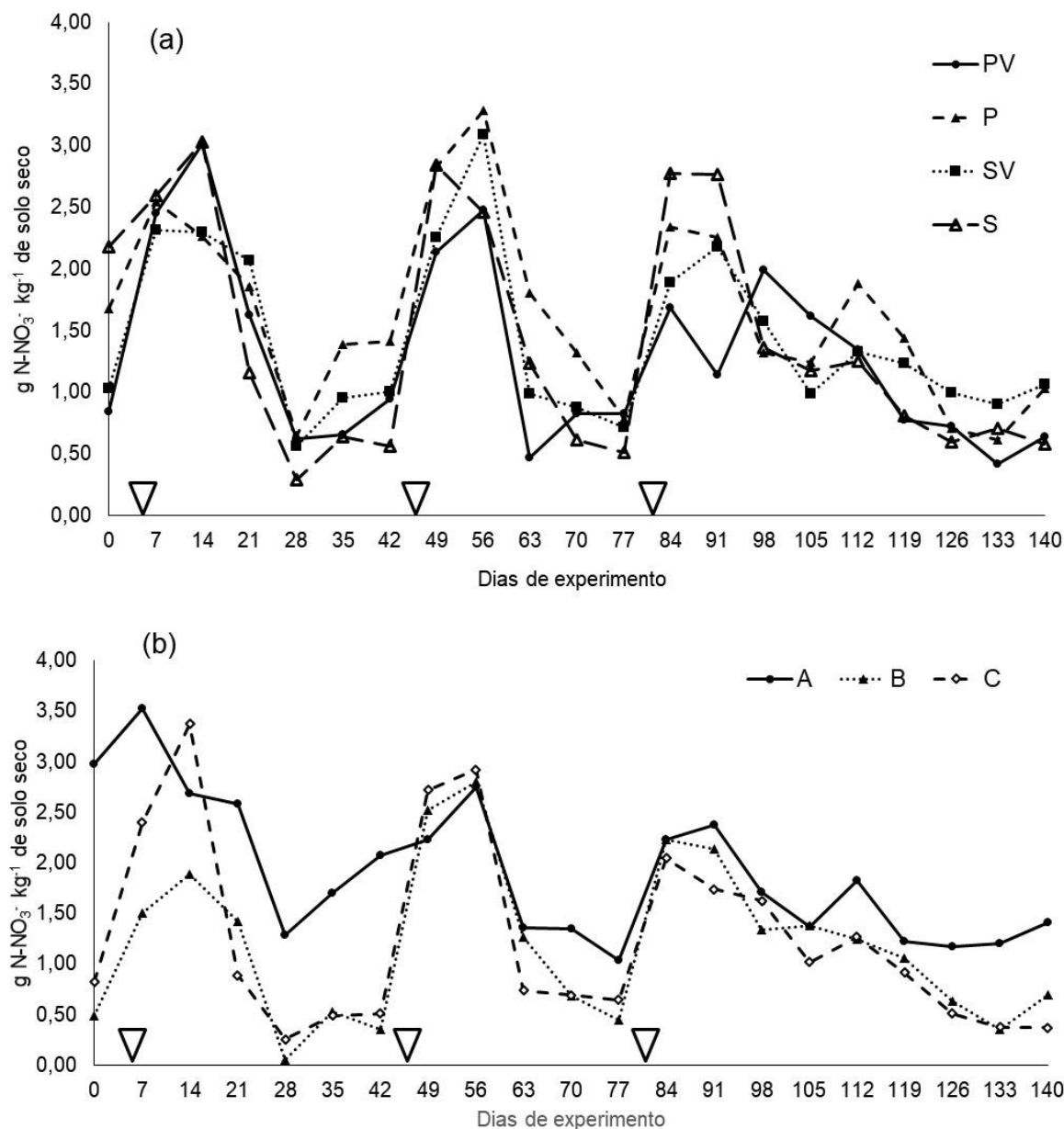


Figura 7. Concentrações de nitrato em g N-NO₃⁻ kg⁻¹ em pasto de capim marandu durante 143 dias, de animais recebendo diferentes tipos de suplementação (a) e diferentes localizações do piquete (b). ▽ = adubação. PV = Suplementação proteico-energética + aditivo fitogênico; P = Suplementação proteico-energética; SV = Suplementação com sal mineral + aditivo fitogênico; S = Suplementação com sal mineral. A = Coletas de solo próximas a área de alimentação dos animais; B = Coletas de solo na região central dos piquetes; C = Coletas de solo nas laterais dos piquetes.

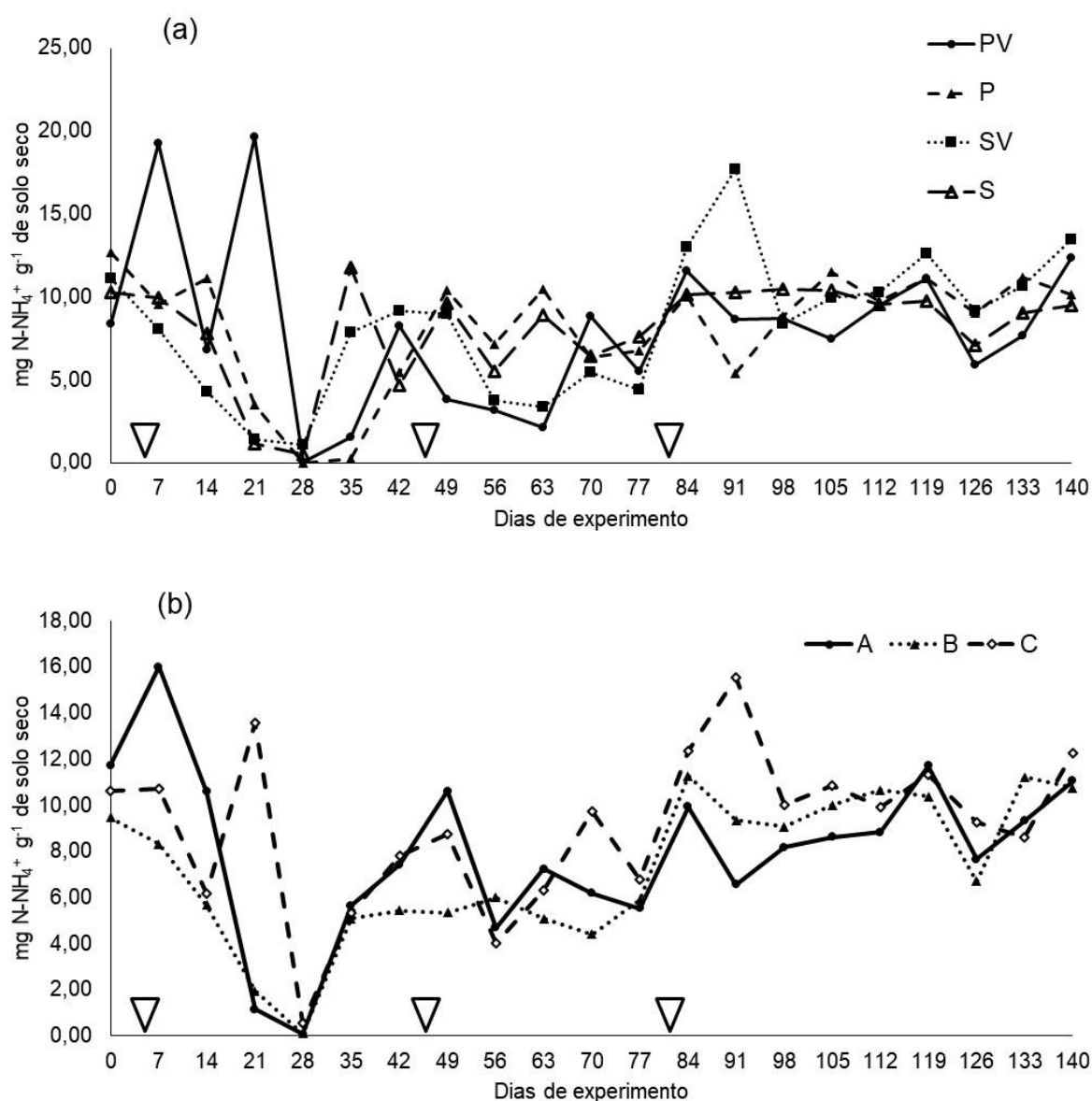


Figura 8. Concentrações de amônio em $\text{g N-NH}_4^+ \text{g}^{-1}$ em pasto de capim marandu durante 143 dias, de animais recebendo diferentes tipos de suplementação (a) e diferentes localizações do piquete (b). ▽ = adubação. PV = Suplementação proteico-energética + aditivo fitogênico; P = Suplementação proteico-energética; SV = Suplementação com sal mineral + aditivo fitogênico; S = Suplementação com sal mineral. A = Coletas de solo próximas a área de alimentação dos animais; B = Coletas de solo na região central dos piquetes; C = Coletas de solo nas laterais dos piquetes.

A análise dos dados de N-NO_3^- dos tratamentos relacionados a suplementação (Tabela 13) não evidenciou diferença ($p = 0,545$), apresentando valores médios de 1,29, 1,65, 1,44 e 1,43 $\text{g N-NO}_3^- \text{kg}^{-1}$ para os tratamentos PV, P, SV e S

respectivamente. Quando os dados de N-NO_3^- foram analisados quanto a localização dos piquetes, houve diferença nos valores médios ($p = 0,009$), onde as áreas próximas do cocho de suplementação dos animais apresentaram valores superiores de N-NO_3^- ($1,91 \text{ g N-NO}_3^- \text{ kg}^{-1}$) em relação às áreas centrais dos piquetes ($1,19 \text{ g N-NO}_3^- \text{ kg}^{-1}$) e às áreas localizadas na lateral dos piquetes ($1,25 \text{ g N-NO}_3^- \text{ kg}^{-1}$), que não diferiram entre si.

A análise dos dados de N-NH_4^+ dos tratamentos relacionados à suplementação (tabela 12) não evidenciou diferença ($p = 0,999$), apresentando valores médios de 8,10, 8,12, 8,28 e 8,10 $\text{g N-NH}_4^+ \text{ kg}^{-1}$ para os tratamentos PV, P, SV e S respectivamente. Quando os dados de N-NH_4^+ foram analisados quanto à localização dos piquetes, também não foram evidenciadas diferenças entre os tratamentos ($p = 0,223$), apresentando valores médios de 8,03, 7,24 e 9,07 $\text{g N-NH}_4^+ \text{ kg}^{-1}$ para as áreas próximas à área de alimentação dos animais; na região central dos piquetes e nas laterais dos piquetes respectivamente.

Tabela 13. Média das concentrações de nitrato em $\text{g N-NO}_3^- \text{ kg}^{-1}$ e amônio em $\text{g N-NH}_4^+ \text{ kg}^{-1}$ em pasto de capim marandu durante 143 dias experimentais

	N-NO₃⁻	N-NH₄⁺
	g kg⁻¹	
PV	1,29	8,10
P	1,65	8,12
SV	1,44	8,28
S	1,43	8,10
p Valor	0,545	0,009
A	1,91a	8,03
B	1,19b	7,24
C	1,25b	9,07
p Valor	0,999	0,223

PV = Suplementação proteico-energética + aditivo fitogênico; P = Suplementação proteico-energética; SV = Suplementação com sal mineral + aditivo fitogênico; S = Suplementação com sal mineral. A = Coletas de solo próximas à área de alimentação dos animais; B = Coletas de solo na região central dos piquetes; C = Coletas de solo nas laterais dos piquetes.

4.6. Correlação entre as emissões de GEE, N mineral, condições climáticas

A análise de correlação (Tabela 14) evidencia que as emissões de N₂O tem correlação com a amônia presente no solo, com a pluviosidade e principalmente as emissões de CO₂. A correlação das emissões de N₂O com a amônia no solo ocorrem nos tratamentos PV e P, que são os tratamentos com suplementação proteico energética, onde possivelmente ocorreu maior deposição de matéria orgânica no solo, provenientes das excretas. A correlação observada entre as emissões de N₂O e a pluviosidade e umidade do solo, evidenciam que a produção de óxido nítrico é dependente da presença de água no ambiente. Já a correlação de óxido nítrico com CO₂ pode ser decorrente da decomposição da matéria orgânica, de forma que além da liberação de carbono no solo, também ocorre a liberação de nutrientes para o solo.

Tabela 14. Regressão linear múltipla entre as emissões de N₂O, CH₄, N mineral, pluviosidade e umidade do solo

Trat.		Pluv.	US	NH ₄ ⁺	NO ₃ ⁻	CO ₂
PV	N ₂ O	-	0,0067	0,0008	-	< 0,0001
	CH ₄	-	-	-	-	0,0377
P	N ₂ O	0,0105	-	0,0004	-	-
	CH ₄	-	-	-	-	-
SV	N ₂ O	-	0,0439	-	-	< 0,0001
	CH ₄	-	0,0027	-	-	-
S	N ₂ O	0,0339	-	-	-	< 0,0001
	CH ₄	-	-	-	-	0,0002

PV = Suplementação proteico-energética + aditivo fitogênico; P = Suplementação proteico-energética; SV = Suplementação com sal mineral + aditivo fitogênico; S = Suplementação com sal mineral; Pluv = Pluviosidade; US = umidade do solo; NH₄⁺ = g N-NH₄⁺ kg⁻¹; NO₃⁻ = g N-NO₃⁻ kg⁻¹.

As emissões de CH₄ apresentaram correlação linear com as emissões de CO₂, evidenciando que elas ocorrem antagonicamente, visto que a produção de CH₄ ocorre em condições de anaerobiose e as emissões de CO₂ ocorrem em condições de aerobiose. A correlação de CH₄ com a umidade do solo evidencia que a produção de CH₄ ocorre em anaerobiose, visto que a água preenche os poros do solo, proporcionando condições de anaerobiose.

5. Conclusões

A suplementação proteico-energética aumenta as emissões de N₂O e CH₄ de excretas de ruminantes e o uso de aditivos fitogênicos mitiga as emissões de N₂O e CH₄.

A posição das câmaras interfere nas emissões de N₂O, sendo que as emissões são maiores nas áreas próximas de cocho e nas laterais dos piquetes em relação as emissões no centro dos piquetes.

A posição das câmaras também interfere nas emissões de CH₄, sendo que as emissões são maiores nas áreas centrais dos piquetes, porém esse fato é mais evidente no início do período experimental.

A volatilização de amônia não varia de acordo com o tipo de suplementação e uso de aditivo fitogênico.

6. Referências

ABDOUN, K., STUMPF, F., MARTENS, H. Ammonia and urea transport across the rumen epithelium: a review. **Animal Health Research Reviews**, 7(1-2), 43-59, 2006.

ALVARES, C. A. et al. Köppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, v. 22, n. 6, p. 711-728, 2013. ISSN 0941-2948.

ALVES, B. J.R.; SMITH, K. A.; FLORES, R. A.; CARDOSO, A. S.; OLIVEIRA, W. R. D.; JANTALIA, C. P.; URQUIAGA, S.; BODDEY, R. M. Selection of the most suitable sampling time for static chambers for the estimation of daily mean N₂O flux from soils. **Soil Biology & Biochemistry**. 46: 129-135, 2012.

AOAC, Association Official Analytical Chemists. Official methods of analysis. 13 ed. Washington, D.C.: AOAC, 1015 p. 1980.

ARAÚJO, E. D. S. et al. Calibração de câmara semiaberta estática para quantificação de amônia volatilizada do solo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, n. 7, p. 769-776, 2009.

ARCHIMEDE, H.; EUGENE, M.; MARIE MAGDELEINE, C. et al. Comparison of methane production between C3 and C4 grasses and legumes. **Animal Feed Science and Technology**, v.166-167, p.59-64, 2011.

BARBERO, R. P.; MALHEIROS, E. B.; ARAUJO, T. L. R.; NAVE, R. L. G.; MULLINIKS, J. T.; BERCHIELLI, T.T.; RUGGIERI, A C; Reis, R. A. Combining Marandu grass

grazing height and supplementation level to optimize growth and productivity of yearling bulls. **Animal Feed Science and Technology**, v. 209, p. 110-118, 2015.

BEAUCHEMIN, K. A.; MCGINN, S.M.; MARTINEZ, T.F. et al. Use of condensed tannin extract from quebracho trees to reduce methane emissions for cattle. **Journal of Animal Science**, v.85, n.8, p.1990-1996, 2007.

BERCHIELLI, T.T.; MESSANA, J.D.; CANESIN, R.C. Produção de metano entérico em pastagens tropicais. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 13, p. 954-968, 2012.

BERNOUX, M.; CARVALHO, M.C.S.; VOLKOFF, B. & CERRI, C.C. CO₂ emission from mineral soils following landcover change in Brazil. **Global Chang. Biol.**, 7:779-787, 2001.

BETTERIDGE, K., MACKAY, A. D., PANDE, T. N., COSTALL, D. A., BUDDING, P., VALENTINE, I., SINGLETON, P.L., DREWRY, J.J., FINDLAYSON, J. M., BOYES, A. Judge Cattle treading on wet soils: implications for pasture growth and soil physical condition. **Proceedings Fertiliser and Lime Research Centre, Dairy Farm Soil Management**, Occasional Report, (15), 79-88, 2002.

BODAS, R.; PRIETO, N.; GARCÍA-GONZÁLEZ, R.; ANDRÉS, S.; GIRÁLDEZ, F.J.; LÓPEZ, S. Manipulation of rumen fermentation and methane production with plant secondary metabolites. **Animal Feed Science and Technology**, v.176, p.78-93, 2012.

BOLAN, N. S.; SAGGAR, S.; LUO, J.; BHANDRAL, R.; SINGH, J. Gaseous emissions of nitrogen from grazed pastures: processes, measurements and modeling, environmental implications, and mitigation. **Advances in agronomy**, v. 84, n. 37, p. 120, 2004.

BRÁZ, S.P. Distribuição de fezes de bovinos e a reciclagem de nutrientes em pastagens de *Brachiaria decumbens*, 2001, 77f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2001.

BRETAS, I. L., PACIULLO, D. S., ALVES, B. J., MARTINS, M. R., CARDOSO, A. S., LIMA, M. A., RODRIGUESE, R. A.R., SILVA, F. F., CHIZZOTTI, F. H. Nitrous oxide, methane, and ammonia emissions from cattle excreta on *Brachiaria decumbens* growing in monoculture or silvopasture with *Acacia mangium* and *Eucalyptus grandis*. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 295, p. 106896, 2020.

CARDOSO, A. S. ALVES, B. J. R., URQUIAGA, S., BODDEY, R. M. Effect of volume of urine and mass of faeces on N₂O and CH₄ emissions of dairy-cow excreta in a tropical pasture. **Animal Production Science**, v. 58, n. 6, p. 1079-1086, 2018.

CARDOSO, A. S.; OLIVEIRA, S. C.; BRITO, L. F.; JANUSCKIEWICZ, E. R.; MORGADO, E. S.; RUGGIERI, A. C. Mineralização e nitrificação do nitrogênio no solo sob pastagem após deposição de excretas bovinas e fertilizante ureia. XXXV Congresso Brasileiro de Ciência do Solo, 2015, Natal. **Anais do XXXV Congresso Brasileiro de Ciência do Solo**, 2015.

CARDOSO, A. S., OLIVEIRA, S. C., JANUSCKIEWICZ, E. R., BRITO, L. F., MORGADO, E. S., REIS, R. A.; RUGGIERI, A. C. Seasonal effects on ammonia, nitrous oxide, and methane emissions for beef cattle excreta and urea fertilizer applied to a tropical pasture. **Soil & Tillage Research**, v. 194, p. 104341, 2019.

CARDOSO, A. S.; SINISCALCHI, D.; JANUSCKIEWICZ, E. R.; BRITO, L. F.; MORGADO, E. S.; RUGGIERI, A. C. How do methane rates vary with soil moisture in a tropical soil? **VII Congresso Brasileiro de Biometeorologia, Ambiente, Comportamento e Bem-Estar Animal: Responsabilidade Ambiental e Inovação**, 2017, Jaboticabal. Funep, v.1. p.1. 2017.

CARNEVALLI, R. A., MELLO, A. C. T. D., SHOZO, L., CRESTANI, S., COLETTI, A. J., & ECKSTEIN, C. Spatial distribution of dairy heifers' dung in silvopastoral systems. **Ciência Rural**, 49(10), 2019.

CARTER, M. S. Contribution of nitrification and denitrification to N₂O emissions from urine patches. **Soil Biology and Biochemistry**, 39(8), 2091-2102, 2007.

CASTILLO, A.R.; KEBREAB, E.; BEEVER, D.E. et al. Review of efficiency of nitrogen utilisation in dairy cows and its relationship with the environmental pollution. **Journal of Animal and Feed Sciences**, v.9, p.1-32, 2000.

CIEŚLAK, A. et al. Plant components with specific activities against rumen methanogens. **Animal** 7(2): 253–265, 2013.

CPEA. Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada Esalq USP [CEPEA], 2018.

DE KLEIN, C. A., BARTON, L., SHERLOCK, R. R., LI, Z., & LITTLEJOHN, R. P. Estimating a nitrous oxide emission factor for animal urine from some New Zealand pastoral soils. **Soil Research**, v. 41, n. 3, p. 381-399, 2003.

DE KLEIN, C. A., LUO, J., WOODWARD, K. B., STYLES, T., WISE, B., LINDSEY, S., COX, N. The effect of nitrogen concentration in synthetic cattle urine on nitrous oxide emissions. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 188, p. 85-92, 2014.

DOANE, T. A.; HORWATH, W. R. Spectrophotometric determination of nitrate with a single reagent. **Analytical Letter**. 36, 2713-2722. 2003.

DORMAN, H. J. D.; DEANS, Stanley G. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. **Journal of applied microbiology**, v. 88, n. 2, p. 308-316, 2000.

FERRAZ, J. B. S., FELÍCIO, P. E. Production systems—An example from Brazil. **Meat science**, v. 84, n. 2, p. 238-243, 2010.

FORSTER, J. C. Soil nitrogen. Alef K, Nannipieri P (eds) **Methods in Applied Soil Microbiology and Biochemistry**. Academic, San Diego, pp 79-87. 1995.

FRUTOS, P., HERVÁS, G., GIRÁLDEZ F. J. et al. Digestive utilization of quebracho-treated soya bean meals in sheep. **Jornal of Agricultural Science**, v.134, n.1, p. 101-108, 2000.

GAO, B., JU, X., SU, F., MENG, Q., OENEMA, O., CHRISTIE, P., ZHANG, F. Nitrous oxide and methane emissions from optimized and alternative cereal cropping systems on the North China Plain: a two-year field study. **Science of the Total Environment**, v. 472, p. 112-124, 2014.

GUIMARÃES-BEELLEN, P.M., BERCHIELLI, T.T., BUDDINGTON, R., BEELLEN, R. Efeito dos taninos condensados de forrageiras nativas do semi-árido nordestino sobre o crescimento e atividade celulolítica de *Ruminococcus flavefaciens* FD1. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 58, 910-917, 2006.

HAYNES, R. J., WILLIAMS, P. H. Nutrient cycling and soil fertility in the grazed pasture ecosystem. **Advanced Agronomy**, 49, 119–199, 1993.

HERVÁS, G., FRUTOS, P., MANTECÓN, A. R. et al. Effect of the administration of quebracho extract on rumen fermentation and diet digestibility in sheep. **Spanish Journal of Agricultural Research**, v.2; n.1, p. 63-70. 2004.

HOULBROOKE, D. J., PATON, R. J., LITTLEJOHN, R. P., & MORTON, J. D. Land-use intensification in New Zealand: effects on soil properties and pasture production. **The Journal of Agricultural Science**, 149(3), 337-349, 2011.

HRISTOV, A. N., OH, J., FIRKINS, J. L., DIJKSTRA, J., KEBREAB, E., WAGHORN, G., MAKKAR, H. P. S., ADESOGAN, A. T., YANG, W., LEE, C., GERBER, P. J., HENDERSON, B., TRICARICO, J. M. Mitigation of methane and nitrous oxide emission from animal operations: I. A review of enteric methane mitigation options. **Journal of animal science** v. 91, pp. 5045-5069. 2013.

IBGE 2017. Produção da pecuária municipal 2016. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, Rio de Janeiro - Brasil. 53pp, 2017.

IBGE. Censo agropecuário. 2017. Rio de Janeiro, 2017. p.1-108. Disponível em: https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/3093/agro_2017_resultados_preliminares.pdf

JIANG, T., SCHUCHARDT, F., LI, G., GUO, R., & ZHAO, Y. Effect of C/N ratio, aeration rate and moisture content on ammonia and greenhouse gas emission during the composting. **Journal of Environmental Sciences**, v. 23, n. 10, p. 1754-1760, 2011.

JOST, D. I., JOERGENSEN, R. G., & SUNDRUM, A. Effect of cattle faeces with different microbial biomass content on soil properties, gaseous emissions and plant growth. **Biology and fertility of soils**, v. 49, n. 1, p. 61-70, 2013.

JURGENS, M. H. Animal feeding and nutrition. **Kendall Hunt**. 2002.

KAMRA, D. N.; AGARWAL, N.; CHAUDHARY, L. C. Inhibition of ruminal methanogenesis by tropical plants containing secondary compounds. **International Congress Series** 1293, p. 156-163, 2006.

KEBREAB, E.; DIJKSTRA, J.; BANNINK, A. et al. Advances in modeling ruminant nutrient utilization. *Journal of Animal Science*, v.87, **E Supplement**, p.E111-E122, 2009.

LAUBACH, J., TAGHIZADEH TOOSI, A., GIBBS, S. J., SHERLOCK, R. R., KELLIHER, F. M., & GROVER, S. P. P. Ammonia emissions from cattle urine and dung excreted on pasture. **Biogeosciences**, 2012.

LEE, J., SIX, J., KING, A. P., VAN KESSEL, C., & ROLSTON, D. E. Tillage and field scale controls on greenhouse gas emissions. **Journal of Environmental Quality**, v. 35, n. 3, p. 714-725, 2006.

LESSA, A. C. R., MADARI, B. E., PAREDES, D. S., BODDEY, R. M., URQUIAGA, S., JANTALIA, C. P., & ALVES, B. J. Bovine urine and dung deposited on Brazilian savannah pastures contribute differently to direct and indirect soil nitrous oxide emissions. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 190, p. 104-111, 2014.

LIU, X. J., MOSIER, A. R., HALVORSON, A. D., REULE, C. A., & ZHANG, F. S. Dinitrogen and N₂O emissions in arable soils: Effect of tillage, N source and soil moisture. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 39, n. 9, p. 2362-2370, 2007.

LUO, J., WYATT, J., VAN DER WEERDEN, T. J., THOMAS, S. M., DE KLEIN, C. A., LI, Y., ROLLO, M., LINDSEY, S., LEDGARD, S. F., LI, J., DING, W. Potential hotspot areas of nitrous oxide emissions from grazed pastoral dairy farm systems. In **Advances in Agronomy** (Vol. 145, pp. 205-268). Academic Press, 2017.

MAZZETTO, A. M., BARNEZE, A. S., FEIGL, B. J., VAN GROENIGEN, J. W., OENEMA, O., & CERRI, C. C. Temperature and moisture affect methane and nitrous oxide emission from bovine manure patches in tropical conditions. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 76, p. 242-248, 2014.

MOSS, Angela R.; JOUANY, Jean-Pierre; NEWBOLD, John. Methane production by ruminants: its contribution to global warming. In: *Annales de zootechnie*. **EDP Sciences**, p. 231-253, 2000.

MORI, A., HOJITO, M. Methane and nitrous oxide emissions due to excreta returns from grazing cattle in N asu, J apan. **Grassland science**, v. 61, n. 2, p. 109-120, 2015.

MUIR, J. P. The multi-faceted role of condensed tannins in the goat ecosystem. **Small Ruminant Research**, v. 98, p.115–120, 2011.

NORRIS, A. B., CROSSLAND, W. L., TEDESCHI, L. O., FOSTER, J. L., MUIR, J. P., PINCHAK, W. E., FONSECA, M. A. Inclusion of quebracho tannin extract in a high-roughage cattle diet alters digestibility, nitrogen balance, and energy partitioning. **Journal of Animal Science**, v. 98, n. 3, p. skaa047, 2020.

NEUBAUER, V., PETRI, R., HUMER, E., KROGER, I., MANN, E., REISINGER, N., WAGNER, M., ZEBELI, Q. "High-grain diets supplemented with phytogenic compounds or autolyzed yeast modulate ruminal bacterial community and fermentation in dry cows." **Journal of dairy science** 101.3, 2335-2349, 2018.

OWENS, F. N., BASALAN, M. Ruminal fermentation. In *Rumenology* (pp. 63-102). **Springer, Cham**. 2016.

PANDE, T. N., VALENTINE, I., BETTERIDGE, K., MACKAY, A., & HORNE, D. Pasture damage and regrowth from cattle treading. In **Proceedings of the conference New Zeland grassland association**. pp. 155-160, 2000.

PARKINSON, J.A.; ALLEN, S.E. A wet oxidation procedure suitable for the determination of nitrogen and mineral nutrients in biological materials. **Communication in Soil Science and Plant Analysis**, v.6, p.1-11, 1975.

PATRA A. K., YU Z. Effective reduction of enteric methane production by a combination of nitrate and saponin without adverse effect on feed degradability, fermentation, or bacterial and archaeal communities of the rumen. **Bioresource Technol.** 148 352–360, 2013.

PELSTER, D. E., GISORE, B., GOOPY, J., KORIR, D., KOSKE, J. K., RUFINO, M. C., & BUTTERBACH-BAHL, K. Methane and nitrous oxide emissions from cattle excreta on an East African grassland. **Journal of environmental quality**, v. 45, n. 5, p. 1531-1539, 2016.

PIETIKÄINEN, J., PETTERSSON, M., & BÅÅTH, E. Comparison of temperature effects on soil respiration and bacterial and fungal growth rates. **FEMS microbiology ecology**, v. 52, n. 1, p. 49-58, 2005.

POWELL, J.M.; WATTIAUX, M.A.; BRODERICK, G.A.; MOREIRA, V.R.; CASLER, M.D. Dairy diet impacts on fecal chemical properties and nitrogen cycling in soils. **Soil Science**, v.70, p.786–794, 2006.

POWELL, J. M.; AGUERRE, M. J.; WATTIAUX, M. A. Dietary crude protein and tannin impact dairy manure chemistry and ammonia emissions from incubated soils. **Journal of environmental quality**, v. 40, n. 6, p. 1767-1774, 2011a.

POWELL, J. M.; AGUERRE, M. J.; WATTIAUX, M. A. Tannin extracts abate ammonia emissions from simulated dairy barn floors. **Journal of Environmental Quality**, v. 40, n. 3, p. 907-914, 2011b.

PUCHALA, R.; MIN, B.R.; GOETSCH, A.L. et al. The effect of a condensed tannin-containing forage on methane emission by goats. **Journal of Animal Science**, v.83, n.1, p.182-186, 2005.

REN, C., CHEN, J., LU, X., DOUGHTY, R., ZHAO, F., ZHONG, Z. REN, G. Responses of soil total microbial biomass and community compositions to rainfall reductions. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 116, p. 4-10, 2018.

ROCHETTE, P. No-till only increases N₂O emissions in poorly-aerated soils. *Soil & Tillage Research* 101:97-100, 2008.

ROCHETTE, P.; ANGERS, D.; CHANTINI, M.H.; MacDONALD, J.D.; GASSER, M. O.; BERTRAND, N. Reducing ammonia volatilization in a no-till soil by incorporating urea and pig slurry in shallow bands. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, v. 84, n. 1, p. 71-80, 2009.

ROCHETTE, P., CHANTIGNY, M. H., ZIADI, N., ANGERS, D. A., BÉLANGER, G., CHARBONNEAU, É., BERTRAND, N. Soil nitrous oxide emissions after deposition of dairy cow excreta in eastern Canada. **Journal of Environmental Quality**, v. 43, n. 3, p. 829-841, 2014.

SAARIJÄRVI, K., MATTILA, P. K.; VIRKAJÄRVI, P. Ammonia volatilization from artificial dung and urine patches measured by the equilibrium concentration technique (JTI method). **Atmospheric Environment**, v. 40, n. 27, p. 5137-5145, 2006.

SAGGAR, S., BOLAN, N. S., BHANDRAL, R., HEDLEY, C. B., & LUO, J. A review of emissions of methane, ammonia, and nitrous oxide from animal excreta deposition and farm effluent application in grazed pastures. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 47(4), 513-544, 2004.

SEGNINI, A., XAVIER, A. A. P., OTAVIANI-JUNIOR, P. L., OLIVEIRA, P. P. A., PEDROSO, A. D. F., PRAES, M. F. F. M., MILORI, D. M. B. P. Soil carbon stock and humification in pastures under different levels of intensification in Brazil. **Scientia Agricola**, 76(1), 33-40, 2019.

SORDI, A., DIECKOW, J., BAYER, C., ALBURQUERQUE, M. A., PIVA, J. T., ZANATTA, J. A., DE MORAES, A. Nitrous oxide emission factors for urine and dung patches in a subtropical Brazilian pastureland. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 190, p. 94-103, 2014.

STEINFELD, H., GERBER, P., WASSENAAR, T., CASTEL, V., ROSALES, M., & DE HAAN, C. Livestock's Role in Climate Change and Air Pollution, Livestock's Long Shadows: **Environmental Issues and Options**, 2006.

TAYLOR, A. M., AMIRO, B. D., TENUTA, M., & GERVAIS, M. Direct whole-farm greenhouse gas flux measurements for a beef cattle operation. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, 239, 65-79, 2017.

VAN DER WEERDEN, T. J. et al. Nitrous oxide emissions from urea fertiliser and effluent with and without inhibitors applied to pasture. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 219, p. 58-70, 2016.

VAN SOEST, P. J. Nutritional ecology of the ruminant. 2.ed. New York: **Cornell University Press**. 476p, 1994.

WARD, G.; GREENWOOD, K. Research and experiments in treading and wet soil management in Victoria. **Dairy farm soil management** (Eds LD Currie, P Loganathan) pp, p. 47-59, 2002.

YANG, K., WEI, C., ZHAO, G. Y., XU, Z. W., & LIN, S. X. Dietary supplementation of tannic acid modulates nitrogen excretion pattern and urinary nitrogenous constituents of beef cattle. **Livestock Science**, 191, 148– 152, 2016.

ZHAO, G. Y. Modulation of protein metabolism to mitigate nitrous oxide (N₂O) emission from excreta of livestock. **Current Protein and Peptide Science**, 18, 525– 531, 2017.