

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP

CÂMPUS DE JABOTICABAL

**QUANTIFICAÇÃO DAS EMISSÕES DE ÓXIDO NITROSO E
METANO DE FEZES DE HERBÍVOROS E SUAS RELAÇÕES
COM A COMPOSIÇÃO QUÍMICA DAS FEZES**

Francisco Paulo Amaral Júnior

Zootecnista

2022

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP

CÂMPUS DE JABOTICABAL

**QUANTIFICAÇÃO DAS EMISSÕES DE ÓXIDO NITROSO E
METANO DE FEZES DE HERBÍVOROS E SUAS RELAÇÕES
COM A COMPOSIÇÃO QUÍMICA DAS FEZES**

Discente: Francisco Paulo Amaral Júnior

Orientadora: Profa. Dra. Ana Cláudia Ruggieri

Coorientador: Dr. Abmael da Silva Cardoso

Coorientadora: Dra. Vanessa Zironi Longhini

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

A485q

Amaral Júnior, Francisco Paulo

Quantificação das emissões de óxido nitroso e metano de fezes de herbívoros e suas relações com a composição química das fezes /

Francisco Paulo Amaral Júnior. -- Jaboticabal, 2022

34 p. + 1 CD-ROM

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal

Orientadora: Ana Cláudia Ruggieri

1. Gases estufa. 2. Óxido nitroso. 3. Metano. 4. Herbivoria. 5. Mudanças climáticas. 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: QUANTIFICAÇÃO DAS EMISSÕES DE ÓXIDO NITROSO E METANO DE FEZES DE HERBÍVOROS E SUAS RELAÇÕES COM A COMPOSIÇÃO QUÍMICA DAS FEZES

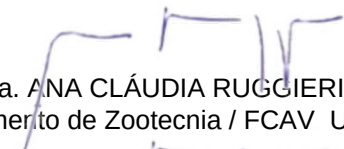
AUTOR: FRANCISCO PAULO AMARAL JÚNIOR

ORIENTADORA: ANA CLÁUDIA RUGGIERI

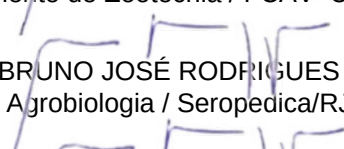
COORIENTADOR: ABMAEL DA SILVA CARDOSO

COORIENTADORA: VANESSA ZIRONDI LONGHINI

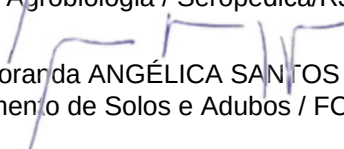
Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em ZOOTECNIA, pela Comissão Examinadora:



Profa. Dra. ANA CLÁUDIA RUGGIERI (Participação Virtual)
Departamento de Zootecnia / FCAV UNESP Jaboticabal



Prof. Dr. BRUNO JOSÉ RODRIGUES ALVES (Participação Virtual)
Embrapa Agrobiologia / Seropédica/RJ



Pós-doutoranda ANGÉLICA SANTOS RABELO DE SOUZA BAHIA (Participação Virtual)
Departamento de Solos e Adubos / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Jaboticabal, 23 de fevereiro de 2022

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

FRANCISCO PAULO AMARAL JÚNIOR – nascido em Cruz das Almas, BA, no dia 18 de outubro de 1988. Zootecnista formado pela Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Câmpus “Juvino Oliveira”. Durante a graduação foi orientado da professora Daniela Deitos Fries, obtendo bolsa de iniciação científica por dois anos pela Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia e dois anos de bolsa pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico. Iniciou seu mestrado no mês de março de 2020 na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias “Júlio de Mesquita Filho” (FCAV – Unesp), Câmpus de Jaboticabal, sob orientação da Profa. Dra. Ana Cláudia Ruggieri, como bolsista do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico.

AGRADECIMENTOS

A Deus pelo dom da vida, pela saúde e proteção.

Aos meus pais Francisco Paulo de Souza Vasconcelos do Amaral e Maria Cândida Barbosa Santos do Amaral, pelo amor, carinho e todo suporte que concedeu em toda minha vida.

À minha filha Mel Andrade Amaral, por toda paciência e compreensão que teve com seu pai, que esteve distante em razão dos estudos.

A todos meus familiares que sempre me incentivaram a realizar o mestrado, em especial às minhas irmãs Ana Carla e Ana Paula.

À minha namorada Raquel, que sempre foi a grande incentivadora para que iniciasse e também durante todo o mestrado, mesmo quando eu não acreditava ser possível.

À Universidade Estadual Paulista e o Programa de Pós-Graduação em Zootecnia pela oportunidade de realização desse curso.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo financiamento da bolsa de estudos.

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo pelo apoio financeiro (Projeto: 18/16273-0).

À minha orientadora Ana Cláudia Ruggieri pela paciência e ensinamentos que teve comigo.

Aos meus coorientadores Abmael e Vanessa por todo apoio concedido ao longo dessa jornada.

A todos os membros do grupo de pesquisa UNESPFOR, em especial a, Fabio, Fernanda, Gabi, Gilmar, Lucas, Matungão, Marina, Nauara, Olavo e Ricardo.

A todos os amigos que adquiri no tempo em que passei na República Ranchão, em especial Dexter, K-xote, Pato e o Truta.

A todos os amigos da República Toca fogo.

SUMÁRIO

	Páginas
RESUMO.....	ii
ABSTRACT	iv
LISTA DE ABREVIACÕES.....	vi
LISTA DE TABELAS	viii
LISTA DE FIGURAS	ix
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	2
2.1. Emissões de óxido nitroso	2
2.2. Emissões de metano	5
2.3. Efeitos da dieta na composição química das fezes de herbívoros.....	8
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	12
3.1. Localização e características do solo	12
3.2. Delineamento experimental e preparação dos tratamentos.....	12
3.3. Análise da composição química.....	13
3.4. Medições de N ₂ O e CH ₄	14
3.5. N-mineral	15
3.6. Análise estatística	15
4. RESULTADOS.....	15
4.1. Fluxos de CH ₄ e N ₂ O	15
4.2. N-mineral	18
4.3. Razão CH ₄ e N ₂ O/MS fezes e Razão N ₂ O emitida/N-total fezes.....	18
4.4. Efeito da composição química das fezes nas emissões de CH ₄ e N ₂ O	20
5. DISCUSSÃO	20
5.1. Comportamento dos fluxos de CH ₄ e N ₂ O	21
5.2. Fração N emitida na forma de N ₂ O.....	21
5.3. Efeito da composição química das fezes	22
6. CONCLUSÃO	24
7. REFERÊNCIAS	24

QUANTIFICAÇÃO DAS EMISSÕES DE ÓXIDO NITROSO E METANO DE FEZES DE HERBÍVOROS E SUAS RELAÇÕES COM A COMPOSIÇÃO QUÍMICA DAS FEZES

RESUMO – O óxido nitroso (N_2O) e o metano (CH_4) são dois importantes gases de efeito estufa (GEE). O N_2O , no setor agropecuário, é formado a partir do nitrogênio (N) presente nas excretas dos animais e nos fertilizantes nitrogenados, enquanto o CH_4 emitido é oriundo da fermentação entérica dos animais e das fezes durante o processo de decomposição. A dieta pode ser um dos principais fatores que influenciam a composição química das excretas e assim alterar os fluxos das emissões dos principais GEE, como o N_2O e CH_4 . Portanto, o presente estudo teve como objetivo investigar se a composição química das fezes de diferentes herbívoros pode ser indicadora das emissões de N_2O e CH_4 . O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com cinco tratamentos e cinco repetições. Os tratamentos foram fezes de ovinos, caprinos, bovinos de corte, bovinos de leite e equinos. Os tratamentos testados foram incubados em vasos de Mason em ambiente controlado, sendo os fluxos dos gases quantificados até 100 dias de incubação. Para a razão CH_4/MS fezes, os tratamentos diferiram entre si. Observou-se que no tratamento de fezes de bovinos de leite a razão CH_4/MS foi maior que nos demais tratamentos, seguidos de bovinos de corte. Enquanto nos tratamentos com fezes de caprinos, ovinos e equinos não apresentaram diferenças significativas entre si. Verificou-se que os tratamentos diferiram entre si para a razão N_2O/MS fezes. O tratamento com fezes de caprinos apresentou maior emissão de N_2O/MS fezes em relação aos demais, seguido pelos tratamentos contendo fezes de ovinos, bovinos de corte, bovinos de leite e para as fezes de equinos. Os tratamentos diferiram entre si quanto a razão N_2O/N -total, sendo que os maiores valores de N_2O/N -total foram para fezes de caprinos. Entretanto, não foi verificada diferença significativa para bovinos de corte que por sua vez foram maiores que todos os outros tratamentos. As menores razões N_2O/N -total foram os tratamentos com fezes de bovinos de leite, ovinos e equinos que não houve diferença significativa entre si. Houve correlação negativa entre as emissões cumulativas de CH_4 e o teor de matéria orgânica ($r = -0,65$) e fibra insolúvel em detergente neutro ($r = -0,59$) presente nas fezes. Além disso, também

apresentou moderada correlação positiva com nitrogênio não proteico ($r = 0,52$). Para as emissões cumulativas de N_2O , houve forte correlação positiva com o nitrogênio total ($r = 0,82$), nitrogênio insolúvel em detergente neutro ($r = 0,77$) e moderada correlação positiva com nitrogênio insolúvel em detergente ácido ($r = 0,63$) presente nas fezes. No entanto, apresentou forte correlação negativa com a fibra insolúvel em detergente ácido ($r = -0,70$) e relação carbono/nitrogênio ($r = -0,70$). Nossos resultados corroboram com outros trabalhos que demonstram o aumento das emissões de N_2O a medida que se aumenta a o teor de NT e reduz a relação C/N. Este estudo também demonstra a necessidade de que mais pesquisas sejam desenvolvidas avaliando as interações entre umidade e microbiota das fezes com as emissões de N_2O . Quanto as emissões de CH_4 , foi possível observar que fezes com frações de C e N menos recalcitrantes são mais facilmente degradados, o que diminuir a quantidade de substrato para os microorganismos metanogênicos, e reduz as emissões de CH_4 .

Palavras-chave: composição química, fezes, metano, óxido nitroso.

QUANTIFICATION OF NITROUS OXIDE AND METHANE EMISSIONS FROM HERBIVORE FAECES AND THEIR RELATIONSHIPS TO THE CHEMICAL COMPOSITION OF FAECES

ABSTRACT – Nitrous oxide (N_2O) and methane (CH_4) are two important greenhouse gases (GHG). In the agricultural sector, N_2O is formed from nitrogen (N) present in animal excreta and nitrogen fertilizers, while the CH_4 emitted comes from the enteric fermentation of animals and faeces during the decomposition process. Diet can be one of the main factors that influence the chemical composition of excreta and thus change the fluxes of emissions of the main GHGs, such as N_2O and CH_4 . Therefore, the present study aimed to investigate whether the chemical composition of feces from different herbivores can be an indicator of N_2O and CH_4 emissions. The experiment was carried out in a completely randomized design, with five treatments and five replications. The treatments were faeces of sheep, goats, beef cattle, dairy cattle and horses. The tested treatments were incubated in Mason's vases in a controlled environment, and the gas fluxes were quantified up to 100 days of incubation. For the CH_4/MS faeces ratio, the treatments differed from each other. It was observed that the faeces treatment of dairy cattle was higher than the other treatments, followed by beef cattle. While treatments with faeces from goats, sheep and horses did not show significant differences between them. The treatments were found to differ from each other for the $\text{N}_2\text{O}/\text{MS}$ faeces ratio. The treatment with goat feces presented higher emission in relation to the others, followed by treatments containing feces of sheep, beef cattle, dairy cattle and for equine faeces. The treatments differed in terms of the $\text{N}_2\text{O}/\text{N-total}$ ratio. The biggest reasons were for goat faeces that there was no significant difference for beef cattle which in turn were higher than all other treatments. The lowest $\text{N}_2\text{O}/\text{N-total}$ ratios were the treatments with faeces of dairy cattle, sheep and horses, which had no significant difference between them. There was a negative correlation between the cumulative emissions of CH_4 and the content of organic matter ($r = -0.65$) and neutral detergent insoluble fiber ($r = -0.59$) present in the faeces. In addition, it also showed moderate positive correlation with non-protein nitrogen ($r = 0.52$). For cumulative N_2O emissions, there was a strong positive correlation with total nitrogen ($r = 0.82$), neutral detergent insoluble nitrogen ($r = 0.77$) and moderate positive correlation with acid detergent insoluble nitrogen ($r = 0.63$) present in the faeces. However, it showed a strong negative correlation with acid detergent insoluble fiber ($r = -0.70$) and carbon/nitrogen ratio ($r = -0.70$). Our results corroborate other works that demonstrate the increase of N_2O emissions as the NT content increases and the C/N ratio decreases. This study also demonstrates the need for more research to be carried out evaluating the interactions between moisture and faeces microbiota with N_2O emissions. As for CH_4 emissions, it was possible to observe that faeces with less recalcitrant fractions of C and N are more easily

degraded, which reduces the amount of substrate for methanogenic microorganisms, and reduces CH₄ emissions.

Keywords: chemical composition, faeces, methane, nitrous oxide.

LISTA DE ABREVIACÕES

%EPSA Espaço poroso preenchido por água

C Carbono

CH₄ Metano

C/N Relação Carbono:Nitrogênio

CT Carbono total

CO₂ Dióxido de carbono

D Dia

DAA Dias após aplicação dos tratamentos

FDN Fibra insolúvel em detergente neutro

FDA Fibra insolúvel em detergente ácido

FE Fator de emissão

GEE Gases de efeito estufa

H⁺ Íon de hidrogênio

IPCC Painel Intergovernamental de Mudanças Climáticas

MF Massa fresca

MS Matéria seca

MO Matéria orgânica

NT Nitrogênio total

NNP Nitrogênio não proteico

NIDN Nitrogênio insolúvel em detergente neutro

NIDA Nitrogênio insolúvel em detergente ácido

N Nitrogen/Nitrogênio

N₂ dinitrogênio

N₂O Óxido nitroso

NH₃ Amônia

NH₄⁺ Amônio

NO óxido nítrico

NO₃⁻ nitrato

O₂ oxigênio

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1. Composição química de fezes de diferentes espécies de herbívoros	10
Tabela 2. Composição químicas das fezes de ovinos, caprinos, bovinos de corte, bovinos de leite e equinos	13
Tabela 3. Coeficientes de correlação de Pearson (r) entre emissões cumulativas de N ₂ O ou CH ₄ de fezes com as variáveis explicativas.....	20

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Modelo conceitual hole-in-the-pipe (adaptado de Firestone e Davidson, 1989).	3
Figura 2. Fluxos de CH ₄ (ng CH ₄ g ⁻¹ solo seco dia ⁻¹) durante 100 dias de incubação após a aplicação de fezes de ovinos, caprinos, bovinos de corte, bovinos de leite e equinos. As barras indicam o erro padrão das médias	16
Figura 3. Fluxos de N ₂ O (ng N ₂ O g ⁻¹ solo seco dia ⁻¹) durante 100 dias de incubação após a aplicação de fezes de ovinos, caprinos, bovinos de corte, bovinos de leite e equinos. As barras indicam o erro padrão das médias	17
Figura 4. Razão N-N ₂ O/MS fezes (a), razão C-CH ₄ /MS fezes (b), razão N-N ₂ O/N-total (c) de fezes de ovinos, caprinos, bovinos de corte, bovinos de leite e equinos. Médias seguidas de letras iguais entre espécies indicam que não houve diferença significativa pelo teste de Tukey-HSD a 5%	19

1. INTRODUÇÃO

O óxido nitroso (N_2O) e o metano (CH_4) são importantes gases de efeito estufa (GEE) com potencial de aquecimento global 265 e 28 vezes maior que o dióxido de carbono (CO_2) (IPCC, 2013). O aumento das concentrações desses gases na atmosfera, desde o período pré-industrial, foi de 123% para o N_2O e de 262% para CH_4 (WMO, 2021). O N_2O tem o papel de destaque, uma vez que possui ação de depleção na camada de ozônio, precursor do NO_x estratosférico, principal fonte que acelera a destruição do ozônio (Ravishankara et al., 2009). No setor agropecuário, o N_2O é formado a partir do nitrogênio (N) presente nas excretas (fezes e urina) dos animais e dos fertilizantes nitrogenados (Cai et al., 2017), enquanto o CH_4 emitido é oriundo da fermentação entérica e do resultado da metanogênese nas fezes (Saggar et al., 2004).

As excretas quando depositadas no pasto, geralmente são distribuídas de forma desigual, cobrindo anualmente cerca de 30-40% da área total das pastagens (Bolan et al., 2004; Haynes e Williams, 1993). Assim, como há grande quantidade de N presente em áreas relativamente pequenas ocupadas pelas excretas, há excedente na capacidade das plantas em utilizarem todo o N disponível e, são formados os “sítios mais ativos” de emissão de N_2O (Maljanen et al., 2007; Bertram et al., 2009). Dessa forma, o N retornado ao sistema pode ser perdido por emissão direta, como o N_2O , ou por emissão indireta, como volatilização de NH_3 e lixiviação do nitrato (NO_3^-) (Sutton, 2011; Cameron et al., 2013).

O N presente na urina está na forma inorgânica e prontamente disponível para as plantas e microorganismos. Por outro lado, o N presente nas fezes é encontrado na forma orgânico e inorgânico, porém o N na forma orgânica precisa ser mineralizado para em seguida ser utilizado pelas plantas e por microorganismos (Cai et al., 2017).

A matéria orgânica (MO) das fezes é a fonte de energia para a respiração dos microorganismos, enquanto a umidade possibilita as condições anaeróbicas (Van Groenigen et al., 2005), impulsionando assim a emissão de N_2O por desnitrificação e a liberação de CH_4 (Jarvis et al., 1995; Mazzetto et al., 2014; Cardoso et al., 2019). No entanto, para que ocorra essas emissões de N_2O por nitrificação ou desnitrificação, é preciso que haja disponibilidade de NO_3^- e/ou NH_4^+ (amônio) no solo (Chadwick et

al., 2018), e a concentração desses compostos estará altamente dependente do quão recalcitrante são os compostos nitrogenados nas fezes.

A produção de CH_4 ocorre tanto pelas fezes como no solo. Após a deposição de fezes no solo, ocorre aumento da população de microrganismos metanogênicos em função do maior aporte de carbono (C) solúvel que será fonte de energia para esses microrganismos (Jarvis et al., 1995; Yamulki et al., 1999; Ho et al., 2015). Dessa forma, a produção de CH_4 pode variar de acordo com a disponibilidade de nutrientes, umidade do solo e quantidade de fezes, normalmente indicada pela relação C/N, teor de lignina, energia, fibras insolúvel em detergente neutro (FDN) e ácido (FDA) (Gao et al., 2016), e para o último, a labilidade da MO é fator detrimental. No entanto, estudos que avaliam o efeito da composição química das fezes, nas emissões de N_2O e CH_4 ainda são incipientes.

Nesse contexto, nossas hipóteses são: (1) o teor de matéria seca (MS) das fezes regulará as emissões de N_2O e CH_4 ; (2) as emissões de N_2O pelas fezes serão reguladas pelo teor de N não proteico (NNP); (3) a quantidade de CH_4 será controlada pelas frações fibrosas ligadas as fezes; e (4) a produção de CH_4 será regulada pelo teor de MO. Portanto, o presente estudo teve como objetivo investigar se a composição química das fezes de diferentes espécies de herbívoros (bovinos, ovinos, caprinos e equinos) pode ser indicadora das emissões de N_2O e CH_4 .

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Emissões de óxido nitroso

2.1.1. Solo

Os principais processos que regulam a produção de N_2O são a nitrificação e a desnitrificação, os quais são dependentes de fatores como temperatura, aeração e teor de umidade do solo e processos que controlam a disponibilidade de N mineral (mineralização e imobilização). O teor de N mineral do solo pode ser influenciado pela entrada de N inorgânico pelas excretas e fertilizantes, processos de imobilização e mineralização do N orgânico derivado das excretas ou solo, absorção de N pelas plantas, além da volatilização da NH_3 e lixiviação do NO_3^- (Cai et al., 2017).

A nitrificação ocorre em duas fases, sendo realizada por bactérias específicas quimioautotróficas nitrificantes, que irão oxidar o NH_4^+ para NO_2^- (nitrito) e posteriormente, o NO_2^- para NO_3^- . Enquanto para o processo desnitrificação, os microorganismos irão reduzir o NO_3^- para N_2O e N_2 (dinitrogênio). O processo heterotrófico ocorre em condições anaeróbicas à medida que o substrato (NO_3^-) estiver disponível e C orgânico for alto (Fireston e Davidson, 1989; Wrage et al., 2001).

No solo, o principal modelo que descreve a produção de N_2O e óxido nítrico (NO) é denominado *hole-in-the-pipe* conceituado por Firestone e Davidson (1989). Esse modelo demonstra as atividades microbiológicas de produção e consumo de N_2O , sendo sua produção ajustada em dois momentos (Figura 1). A princípio, a concentração de fluido que irá passar pelo tubo seria semelhante à taxa de ciclagem de N, ou seja, as bactérias nitrificantes (ex. Nitrossomonas e Nitrobacter) irão promover as taxas de oxidação de NH_4^+ e as bactérias desnitrificantes (ex. Pseudomonas) realizarão a redução de NO_3^- . Em um próximo momento, os atributos do solo influenciarão diretamente na quantidade de N que irá passar pelos orifícios (*hole*) como óxidos gasosos de N. À medida que o N estiver disponível no solo haverá aumentos na produção de N_2O e NO.

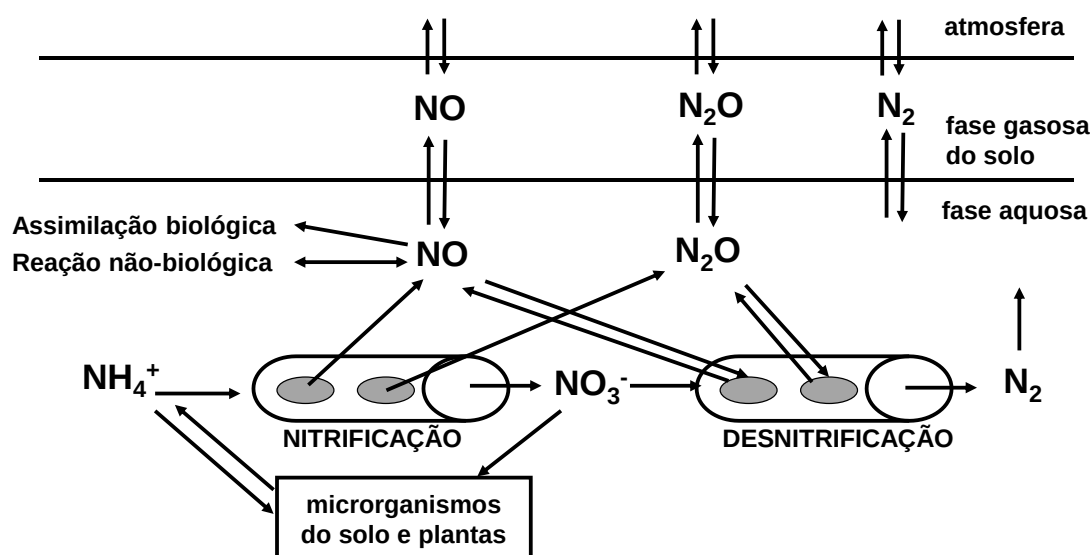


Figura 1. Modelo conceitual *hole-in-the-pipe* (adaptado de Firestone e Davidson, 1989).

Outro fator que tem efeito direto sobre os processos de nitrificação e desnitrificação é o espaço poroso saturado por água (EPSA). Em condições de grandes quantidades de NH_4^+ , e com EPSA do solo abaixo de 60%, o principal processo de emissão de N_2O será a nitrificação. Por sua vez, quando há grandes quantidades de NO_3^- , resultante da oxidação do NH_4^+ , associado a EPSA no solo acima de 60%, o principal processo de emissão será a desnitrificação (Saggar et al., 2004, 2007; Luo et al., 2008). Esses processos podem ser explicados por existir uma correlação positiva entre a quantidade de água no solo e as emissões de N_2O , ou seja, à medida que se aumenta a umidade do solo, diminui-se a difusão de oxigênio, o que gerará um ambiente anaeróbico, favorecendo os microorganismos denitrificantes na produção de N_2O , desde que haja N mineral disponível (Smith et al., 1998; Luo et al., 2000).

Em relação a temperatura afetando a emissão de N_2O , divergências de informações são encontrados na literatura. Por exemplo, algumas pesquisas indicam que o aumento da temperatura estimula a população microbiana decorrendo em maiores emissões de N_2O (Signor e Cerri, 2013). Enquanto outras pesquisas relatam que o aumento da temperatura, eleva a evaporação do solo, diminuindo a umidade e aumentando a oxigenação, o que reduzirá as emissões de N_2O (Bateman e Baggs, 2005; Cameron et al., 2013).

Outro fator acima mencionado é o pH do solo. Em solos mais ácidos observam-se menores emissões de N_2O devido a indisponibilidade na quantidade de C orgânico e N mineral para a população desnitrificante (Šimek e Cooper, 2002). Além do mais, a acidez do solo influencia a diversidade da comunidade de microorganismos, com impactos negativos para oxidantes de NH_3 , o que irá afetar as taxas de nitrificação.

2.1.2. Excretas

Em sistemas de produção a pasto, o N presente nas plantas é consumido pelos animais, sendo transformado em proteína animal traduzido pelo ganho de peso pelo animal (De Bastos et al., 2020). No entanto, a eficiência de utilização do N pelos animais é baixa, pois em torno de 75-95% do N consumido retorna ao sistema pelas excretas (Whitehead, 2000; Bell et al., 2015). Em decorrência do pastejo

desunirforme, formam-se “sítios de alta emissão de N_2O ” caracterizados pela deposição de excretas com altos teores de N, o equivalente a 600 a 1000 kg N ha⁻¹ (Welten et al., 2013; Selbie et al., 2014). O excesso de N excretado pode ser rapidamente convertido em N mineral no solo e ultrapassar a capacidade absorção e retenção pelas plantas, microorganismos e solo. Assim pode haver um aumento dos processos de lixiviação de NO_3^- , emissões de N_2O e volatilização da NH_3 (Saggar et al., 2011).

As excretas, após serem depositadas nas pastagens, vão se diferenciar quanto a forma física e composição química. Na urina o N está na forma inorgânica, o nitrogênio não proteico (NNP) compõe a maior proporção (80%) da urina (Zaman et al., 2007, 2009), o excedente é constituído por aminoácidos mineralizados, peptídeos e NH_4^+ (Bolan et al., 2004). As fezes apresentam o N na forma inorgânica e orgânica, sendo geralmente 95% na forma orgânica, o qual sofrerá mineralização para que possa ser absorvido por plantas e microorganismos (Whitehead, 2000). No entanto, o N pode estar ligado a componentes estruturais de difícil degradação (celulose, hemicelulose e lignina), o que poderia restringir a atividade microbiana (Braz et al., 2002).

As emissões de N_2O pela urina e fezes se comportam de diferentes formas, enquanto a urina está diretamente relacionada com a emissão de N_2O . Essa diferença se deve ao fato que a composição da urina está predominante na forma inorgânica com alto teor de N mineral, ou seja, prontamente disponível, e as fezes por sua vez apresentam baixo teor de N inorgânico e altos teores de N orgânico que necessitam ser mineralizado (Krol et al., 2016).

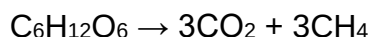
2.2. Emissões de metano

2.2.1. Solo

A produção de CH_4 no solo ocorre sob condições anaeróbicas, por meio de microorganismos metanogênicos, podendo ser transformado em CO_2 por microorganismos metanotróficos, em ambientes aeróbicos e anaeróbicos. O equilíbrio dessas duas atividades conduz ao fluxo líquido de CH_4 entre solo-atmosfera. No

entanto, se o fluxo líquido de CH₄ for positivo, este ambiente será um emissor, ao passo que se houver um fluxo negativo de CH₄, o ambiente atuará como sumidouro (Le Mer e Roger, 2001; Conrad, 2007). Os solos de pastagens apresentam características predominantes como a oxidação de CH₄, dessa forma tornam-se altamente consumidores de CH₄ atmosférico (Mosier et al., 1991; Castaldi et al., 2007). Porém a presença do NH₄⁺ no solo pode afetar a oxidação do CH₄, pois o NH₄⁺ pode inibir as atividades da metano monooxigenase (MMO) ou promover a toxicidade de alguns produtos da oxidação da amônia metanotrófica, como a hidroxilamina e o NO₂⁻ (Le Mer e Roger, 2001; Bodelier e Laanbroek, 2004).

Le Mer e Roger (2001) descreveram que a metanogênese é responsável processo de mineralização completa da matéria orgânica. Em ambientes anaeróbicos, com escassez de sulfato e NO₃⁻ os microorganismos metanogênicos irão produzir CH₄ e CO₂ de acordo com a reação:



Para que ocorra essa equação, quatro populações de microorganismos promovem atividades consecutivas, que irão degradar as moléculas complexas em elementos simples:

- A primeira microflora será a hidrolítica que poderá ser aeróbica ou facultativa ou estritamente anaeróbica, as quais irão hidrolisar os polímeros, transformando-os em monômeros glicídeos, ácidos graxos e aminoácidos.

- A segunda população será a microflora fermentativa que pode ser facultativa ou estritamente anaeróbica, que realizará a acidogênese de elementos monoméricos e intermediários, como os ácidos graxos, ácidos orgânicos, álcoois, H₂ e CO₂, que são produzidos durante a fermentação.

- A terceira população, a microflora sintrófica ou homoacetogênica que realizará a acetogênese dos metabólitos formados anteriormente.

- A quarta população, a microflora metanogênica, irão fermentar os elementos simples, principalmente o H₂+CO₂ e acetato.

A acetofria e a redução de CO₂ por H₂ são as duas formas mais relevantes de produção de CH₄ em âmbitos que ocorrem a alta decomposição de matéria orgânica (Takai, 1970; Conrad et al., 1989;).

Em relação a metanotrofia nos solos há duas principais formas de oxidação de CH_4 . O primeiro modo é a 'oxidação de alta afinidade', possivelmente universal nos solos com baixa ocorrência de NH_4^+ . Contabiliza-se que esta forma colabora com um consumo de 10% do CH_4 total (Bender e Conrad, 1992, 1993; Hansen et al., 1993; Topp e Pattey, 1997). O segundo modo é a 'oxidação de baixa afinidade', e envolve as bactérias metanotróficas que executam o processo em quantidades acima de 40 ppm de CH_4 , sendo considerado como atividade metanotrófica *stricto sensu* (King et al., 1990; Whalen et al., 1990; Jones e Nedwell, 1993).

2.2.2. Fezes

A emissão de CH_4 ocorre à medida que se inicia a decomposição das fezes depositadas no solo. A atividade microbiana, por sua vez, é regulada pelos microrganismos metanógenos e metanotróficos já existentes no solo. Além disso, haverá influência dos microrganismos advindos do rúmen e do intestino grosso, locais onde ocorre a produção de CH_4 nos animais (González-Avalos e Ruiz-Suárez, 2001). A deposição de fezes no solo aumenta a população de microrganismos metanogênicos, fornecendo C solúvel como fonte de energia para esses microrganismos (Jarvis et al., 1995). Dessa forma, a produção de CH_4 poderá ocorrer de duas fontes, pelas fezes e pelo solo. Porém, a participação do solo nas emissões de CH_4 poderá ser maior ou menor dependendo das condições proporcionadas pelas fezes e pelas condições ambientais (Jarvis et al., 1995; Yamulki et al., 1999; Ho et al., 2015).

Ao se contrastar fezes de bovinos com fezes de ovinos, observou-se que a emissão líquida de CH_4 é de $11,8 \pm 5,32 \text{ kg C ha}^{-1}$ vs. $0,35 \pm 0,17 \text{ kg C ha}^{-1}$, respectivamente (Cai et al., 2017). Fezes de bovinos apresentam menor teor de MS em relação às fezes de ovinos (Williams e Haynes, 1995; Van Der Weerden et al., 2011). O teor de MS das fezes é um fator que pode interferir sobre a taxa de infiltração de N no solo, o que irá acarretar na redução das interações do N presente nas fezes com os microrganismos no solo. Entretanto, essa condição é dependente de fatores bióticos e abióticos, como por exemplo, precipitação e irrigação que podem auxiliar na infiltração de N no solo. No entanto, condições ambientais secas podem proporcionar

a secagem mais rápida das fezes acarretando na formação de uma crosta superficial (Van Der Weerden et al., 2011), que irá manter as características anaeróbicas por mais tempo (Jarvis et al., 1995; Yamulki et al., 1999). Além disso, os fragmentos de fezes de bovino são maiores que os de ovinos e existe uma zona com ausência de oxigênio no centro da placa de fezes dos bovinos (Holter, 1991; Cai et al., 2014). Quando há formação de crosta sobre as fezes, pode haver aumentos na produção de CH_4 devido a um ambiente favorável a metanogênese. No entanto, à medida que ocorre a degradação da MO da massa fecal, há o consumo de oxigênio (O_2) nos microssítios no interior da placa de fezes ou no solo, podendo induzir a maior produção de CH_4 e a ação de metanotróficos (Jarvis et al., 1995; Yamulki et al., 1999; Rastogi et al., 2008; Ho et al., 2015; Malyan et al., 2016).

A temperatura é outro fator ambiental que desempenha grande influência na produção de CH_4 , pois estimula a atividade biológica, o grau de utilização do substrato e a velocidade do crescimento dos microorganismos. A faixa de temperatura em que há um maior crescimento dos microorganismos anaeróbios é entre 37 e 42 °C, porém quando a temperatura é inferior a 25 °C, há um decréscimo acentuado na velocidade de degradação da MO (Rohstoffe, 2010).

2.3. Efeitos da dieta na composição química das fezes de herbívoros

No Brasil, as pastagens possuem grande importância nos sistemas de produção de bovinos, ovinos, caprinos e equinos. Porém essas espécies animais são ineficientes no aproveitamento de N, excretando cerca de 75 a 95% em relação ao N ingerido na dieta (Whitehead, 2000; Bell et al., 2015). Além disso, em diversos sistemas de produção de ruminantes, a planta forrageira é proporcionalmente utilizada em maior quantidade na dieta em relação a alimentos concentrados como fonte de nutrientes para os animais. Entretanto, as gramíneas tropicais, possuem características específicas em sua composição, que conforme o gênero, manejo, época do ano, podem exibir baixos teores de proteínas e alto teor de fibras (Gomide et al., 2012). Nos ruminantes, isso implica em um maior tempo de permanência do alimento no rúmen, que pode gerar maior produção de CH_4 entérico a partir da

fermentação microbiana dos carboidratos da dieta hidrolisada, como celulose, hemicelulose, pectina e amido (Crutzen et al., 1986).

Por outro lado, o manejo estratégico do pasto e o uso de fertilizantes, especialmente os nitrogenados, podem melhorar o valor nutritivo da forragem em relação aos teores de proteína bruta (PB) e digestibilidade (Delevatti et al., 2019). Por exemplo, o aumento da PB em dietas de ruminantes resulta em melhor desempenho animal, porém pode ocorrer aumento na excreção urinária de N (Topps e Elliott, 1967; Spek et al., 2013). Isso, provavelmente, se deve ao aumento da degradação de proteínas no rúmen, que aumenta o acúmulo de amônia (NH_3) que em excesso, causa toxicidade ao animal. Essa NH_3 em excesso atravessa a parede ruminal e no fígado é convertida a uréia, podendo ser perdida pela urina (Bach et al., 2005).

Independentemente da espécie animal, verifica-se uma forte correlação linear entre a ingestão de N e o N excretado via urina ou fezes, porém o aumento na ingestão de N, geralmente resulta em maior excreção de N urinário ao invés de N fecal (0,38-0,68 g d^{-1} vs. 0,20-0,39 g d^{-1} , respectivamente) (Gardiner et al., 2016). Segundo Dijkstra et al. (2013) essa variação na excreção de N na urina pode ser 3,5 vezes maior do que nas fezes. No entanto, essa alta variação na excreção no N urinário e N fecal, demonstra que é possível reduzir as perdas pela urina.

O N possui a forma orgânica e inorgânica nas fezes, mas somente na forma orgânica acontece a mineralização do N, tornando-o pronto para a absorção das plantas e atividades de microorganismos (Whitehead, 2000). O N presente nas fezes pode ter origem de duas fontes, via endógena, que tem origem nos produtos microbianos e de microorganismos do rúmen, intestino delgado, intestino grosso e do trato digestivo e também via N de origem alimentar, que se constitui o N não digerido pelo animal (Mason e Frederiksen, 1979).

O N endógeno nas fezes, está prontamente disponível, e diretamente ligado às exigências das plantas e as atividades de microorganismos (Whitehead, 2000). No entanto, o N de origem alimentar nas fezes, será mineralizado mais vagarosamente no solo, tornando-se indisponível em curto prazo para serem utilizados pelas plantas e microorganismos do solo (Sørensen et al., 1994; Somda et al., 1995; Powell et al., 1999). Na Tabela 1 são apresentados alguns dados relacionados a dieta consumidas por bovinos leiteiros e seus efeitos na composição química das fezes.

Tabela 1. Composição química de fezes de bovinos leiteiros

Dieta	NT	NIDN	NIDA	FDN	FDA	CT	C/N	Literatura
	-----g kg MS ⁻¹ -----						g g MS ⁻¹	
SCP + concentrado	37,8	5,1	2,5	370	209	ND	ND	Sørensen et al., 2003
SCP	31,4	6,0	3,5	374	217	ND	ND	
SCT + concentrado	27,7	4,5	2,0	523	299	ND	ND	
SCT	18,1	3,3	2,2	560	343	ND	ND	
SM + concentrado	28,3	5,5	2,4	519	277	ND	ND	
SM	19,9	4,3	2,2	521	283	ND	ND	
FA + concentrado	29,2	5,3	3,1	487	349	ND	ND	
FA	23,3	4,0	2,7	497	366	ND	ND	
FG + concentrado	29,6	5,4	2,5	488	293	ND	ND	
FG	21,9	3,4	2,0	499	314	ND	ND	
100% SM	29,0	8,0	ND	545	ND	452	16	Powell et al., 2006
75% SM + 25% FA	30,3	7,8	ND	528	ND	461	15	
75% SM + 25% AS	29,7	8,4	ND	505	ND	457	15	
SM baixa PB	28,4	8,3	ND	570	ND	448	16	
SM alta PB	28,2	6,4	ND	537	ND	454	16	
SA baixa PB	24,4	4,8	ND	545	ND	444	18	
SA alta PB	24,4	4,8	ND	545	ND	444	18	
Baixa PB - Alta FDN	27	6,5	ND	571	ND	451	17	
Alta PB - Alta FDN	29,4	7,3	ND	564	ND	447	15	
Baixa PB - Média FDN	27,6	6,6	ND	538	ND	462	17	
Alta PB - Média FDN	29,4	7,8	ND	599	ND	453	15	
Baixa PB - Baixa FDN	28,6	6,6	ND	526	ND	457	16	
Alta PB - Baixa FDN	30,5	5,6	ND	512	ND	460	15	

SCP: Silagem de capim (corte precoce); SCT: Silagem de capim (corte tardio); SM: silagem de milho; FA: feno de alfafa; FG: feno de gramínea; SA: silagem de alfafa; PB: proteína bruta; ND: Não determinado; NT: Nitrogênio total; NIDN: Nitrogênio insolúvel em fibra em detergente neutro; NIDA: Nitrogênio insolúvel em fibra em detergente ácido; FDN: Fibra em detergente neutro; FDA: Fibra em detergente ácido; CT: Carbono total; C/N: Relação carbono nitrogênio.

Powell et al. (1999) examinaram a relação entre a mineralização da sobras de dietas de bovinos de leite e a mineralização do N de origem fecal. Os autores observaram que as sobras das dietas e as fezes desses animais apresentam características físicas e químicas muito diferentes, e quando esses foram aplicados sobre as plantas, impactaram no rendimento e na absorção de N pelas plantas e microorganismos. Sørensen et al. (2003), avaliando o consumo de diversas dietas e relação com N mineralizado das fezes de bovinos leiteiros, observaram uma relação positiva entre a proteína bruta, e negativa com detergente neutro (FDN).

Sørensen et al. (2003), determinaram concentrações de 18 a 38 g kg⁻¹ de N na MS nas fezes de bovinos, e que o N aumentava à medida que digestibilidade da MO dos alimentos aumentava. Os autores observaram ainda que a concentração de C nas fezes é constante e por isso a relação C/N foi semelhante. Para fezes de ovinos, Lancaster (1949) e Kyvsgaard et al. (2000) encontraram que a digestibilidade aparente da ração apresentou correlação positiva com a concentração de N das fezes. Os mesmos autores verificaram que a concentração de N fecal foi maior quando a forragem foi suplementada com concentrados em comparação com a mesma forragem fornecida separadamente.

Em relação a qualidade da forragem, Sørensen et al. (2003) constataram que a concentração de N insolúvel em detergente neutro (NIDN), que é a fração de N que está ligada a hemicelulose, celulose e lignina e que não é digerido dos alimentos, foi proporcionalmente constante, com valores de 140 a 210 g kg⁻¹ do total de N de fezes. E os animais, quando suplementados com concentrado, a quantidade de NIDN foi menor no N fecal. O NIDA (N insolúvel em detergente ácido) representa a fração de N mais recalcitrante ligada à celulose e a lignina, apresentou valores de 70-120 g kg⁻¹ do N fecal e variaram mais ou menos de acordo com a dieta fornecida.

Kyvsgaard et al. (2000) observaram que o N das fezes se correlacionaram com a mineralização líquida de N de diferentes dietas, e o C fecal e a relação C/N afeta a variação desta mineralização do N. Diversos estudos que avaliaram dietas com forragem e componentes de esterco demonstram que a relação C/N possuem efeito na mineralização líquida de N (Kyvsgaard et al., 2000; Van Kessel et al., 2000; Nicolardot et al., 2001). Chadwick et al. (2000) verificaram relação significativa entre a mineralização líquida de N de fezes secas e a relação C/N orgânico das fezes.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Localização e características do solo

A incubação das fezes foi conduzida no setor de Forragicultura e Pastagem da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Jaboticabal, São Paulo, Brasil (21°14'05"S e 48°17'09" W, altitude de 598 m). O solo utilizado para a incubação foi coletado em uma área de pastagens de capim-marandu (*Urochloa brizantha* cv. Marandu) estabelecida há mais de 10 anos, na camada de 0-20 cm de profundidade (520 g kg⁻¹ argila, 160 g kg⁻¹ silte, 320 g kg⁻¹ areia). O solo foi classificado como Latossolo Vermelho Distrófico, típico, textura argilosa A moderado, caulínico, hipoférico, com relevo suavemente ondulado segundo (EMBRAPA, 2018). As características químicas do solo são pH 4.9 (em CaCl₂); matéria orgânica 26 g dm⁻³; P 18 g dm⁻³; K 6.7 mmol_c dm⁻³; Ca 37 mmol_c dm⁻³; Mg 8 mol_c dm⁻³ e saturação por bases 520 g kg⁻¹.

3.2. Delineamento experimental e preparação dos tratamentos

Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado, com cinco tratamentos e cinco repetições. Os tratamentos foram fezes de ovinos, caprinos, bovinos de corte, bovinos de leite e equinos, totalizando 25 unidades experimentais. O início do experimento foi em julho de 2020 com a coleta de solo e fezes. O solo coletado foi homogeneizado e passado por uma peneira com malha de 4 mm. Em seguida, as amostras foram secas ao ar e retirada uma subamostra para análise química e física. As fezes foram coletadas imediatamente após a defecação, homogenizadas e conservada a -20°C.

A câmara estática foi constituída por um vaso de Mason com tampas providas de septo para coleta de gás. Cada câmara de 1,02 L recebeu 400 g de solo e 100 g de fezes frescas por tratamento (Jarvis et al., 1995). Três dias antes da aplicação dos tratamentos o solo foi acondicionado nas câmaras, com densidade inicial de 1,2 g cm⁻¹, com adição de 140 mL de água kg⁻¹ de solo, o que resultou em um teor de umidade volumétrica de 18% (32,7% EPSA). As câmaras permaneceram em estufas reguladas

a temperatura constante de $25,0 \pm 1,0$ °C e 80% de umidade relativa do ar durante o período experimental. A umidade do solo foi mantida constante por meio de pesagens diárias dos vasos de Mason e adição de água destilada na superfície para manter a umidade.

3.3. Análise da composição química

As amostras de fezes foram em estufas de circulação forçada de ar a 55°C, em seguidas, moída e depois seguiram para as análises da composição química. Foi determinado os teores de MS, MO e nitrogênio total (NT) (AOAC, 1995). O NNP foi determinado utilizando procedimentos descritos por Licitra et al. (1996). A FDN e FDA foram determinados usando procedimentos descritos pela tecnologia ANKOM, (2006a, 2006b; 2017) e validado por Vogel et al. (2001). O NIDN e NIDA foi determinado pelo método de Kjeldahlem frações de FDN e FDA. O carbono total (CT) foi determinado pelo método adaptado Yeomans e Bremner (1988).

Tabela 2. Composição químicas das fezes de ovinos, caprinos, bovinos de corte, bovinos de leite e equinos

Variáveis ¹	Espécies						EPM
	Ovinos	Caprinos	Bovinos de corte	Bovinos de leite	Equinos	Média	
MS (g kg ⁻¹ MS)	425	281	202	155	151	243	51
MO (g kg ⁻¹ MS)	848	899	863	829	906	869	15
FDN (g kg ⁻¹ MS)	576	597	500	518	650	568	27
FDA (g kg ⁻¹ MS)	308	249	432	355	432	355	36
NT (g kg ⁻¹ MS)	32	39	29	26	19	29	3
NNP (g kg ⁻¹ NT)	173	206	253	237	125	199	23
NIDN (g kg ⁻¹ MS)	14	11	7	6	6	9	1
NIDA (g kg ⁻¹ MS)	6	4	4,5	4	4	4	0,3
CT (g kg ⁻¹ MS)	457	507	485	490	533	494	13
C/N (g g ⁻¹)	14	13	17	18	28	18	3

MS: Matéria seca; MO: Matéria orgânica; FDN: Fibra insolúvel em detergente neutro; FDA: Fibra insolúvel em detergente ácido; NT: Nitrogênio total; NNP: Nitrogênio não proteico; NIDN: Nitrogênio insolúvel em detergente neutro; NIDA: Nitrogênio insolúvel em detergente ácido; CT: Carbono total; C/N: Relação carbono/nitrogênio; MF: Massa fresca; EPM: Erro padrão da média. ¹ Valores corrigidos para 100% de MS.

3.4. Medições de N₂O e CH₄

Após a aplicação dos tratamentos, as amostragens foram realizadas diariamente na primeira semana, depois três vezes por semana até completar 30 dias de avaliação e, posteriormente, semanalmente até 100 dias de avaliação. As amostragens foram realizadas entre 9h00 e 10h00 como preconizado por Alves et al. (2012). As câmaras permaneceram fechadas por um período de 30 min, sendo as amostras de ar coletadas com uma seringa de polipropileno de 50 mL, nos tempos 0 e 30 min. As amostras foram transferidas para frascos de cromatografia pré-evacuados (20 ml) e em seguida a concentração do gás foi determinada por cromatografia gasosa. Para isso utilizou-se um cromatógrafo a gás (Shimadzu Green House Gas Analyzer GC-2014; Kyoto, Japan) sobre as seguintes condições para mensurar N₂O: injetor a 250°C, coluna a 80 °C, usando N₂ como gás de arraste (30 ml min⁻¹), e o detector de captura de elétrons a 325 °C. Para a quantificação de CH₄, utilizou-se H₂ como gás de arraste (30 ml min⁻¹), e detector de ionização de chama a 280 °C.

As temperaturas do ar no interior e fora da câmara foram medidas usando termômetros digitais.

As emissões dos gases (ng N-N₂O g⁻¹ MS fezes dia⁻¹ ou ng C-CH₄ g⁻¹ MS fezes dia⁻¹) foram calculadas em função da mudança da concentração do gás no interior da câmara no período de incubação de acordo com a seguinte equação 1:

$$(1) \text{ Fluxo do gás} = \delta\text{gas}/\delta T \times M/V_m \times V/A$$

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 obtendo as emissões diárias e então foram integrados através de interpolação linear obtendo-se a emissão cumulativa. Os fluxos negativos foram incluídos nos cálculos para evitar enviesamento nos resultados (Van Der Weerden et al., 2011).

A razão CH₄ e N₂O/MS fezes foi calculado entre o CH₄ e N₂O emitido pelas fezes e a MS das fezes aplicado.

A razão N_2O-N/N -total foi calculado entre o $N-N_2O$ emitido pelas fezes e o N total das fezes aplicado. O limite mínimo de detecção do cromatógrafo foi de $\pm 0,16$ ng N_2O g⁻¹ MS fezes dia⁻¹.

3.5. N-mineral

A determinação do N-mineral no solo foi medido antes da aplicação dos tratamentos e no final do período de incubação. A extração foi realizada em solução 2M KCl e a quantificação foi realizada por análise colorimétrica pela reação de Berthelot (Foster, 1995) para a determinação de NH_4^+ , e redução pelo cloreto de vanádio-III (Doane e Horwáth, 2003) para determinação do NO_3^- .

3.6. Análise estatística

Os fluxos diários de N_2O e CH_4 foram relatados com média e seu respectivo erro padrão da média. Os dados foram analisados quanto a normalidade dos resíduos e homocedasticidade das variâncias usando os testes de Cramer-von Mises e Bartlett. Para as razões $N-N_2O/MS$ e $C-CH_4/MS$, houve necessidade de transformação dos dados pela raiz quadrada, os dados relatados são das média transformadas. Foi realizado análise de variância das razões $N-N_2O/MS$ e $C-CH_4/MS$ dos gases e em seguida utilizado o teste de comparação entre média TUKEY-HSD a 5% de probabilidade, usando o programa estatístico R versão 3.1.2 (2014). Para verificar a associação entre as emissões cumulativas dos gases e a composição química das fezes, foi calculado o coeficiente de correlação de Pearson (r) a 5% de probabilidade. Para tal, os dados foram avaliados quanto aos pressupostos do teste.

4. RESULTADOS

4.1. Fluxos de CH_4 e N_2O

O fluxo de CH_4 apresentou aumento nas emissões para todos os tratamentos já no primeiro dia após a aplicação (DAA), diminuindo para os níveis basais a partir

do segundo dia (Figura 2). No 1 DAA, a ordem decrescente de fluxo de CH_4 foi a seguinte: fezes de bovinos de leite, bovinos de corte, caprino, equino e ovinos, com os respectivos valores de 11184, 7403, 1437, 1294 e 208 $\text{ng CH}_4 \text{ g}^{-1} \text{ solo seco dia}^{-1}$. No entanto, verificou-se uma variação do fluxo de CH_4 durante os dias de incubação. Observou-se, que a partir do 11 DAA, houve uma mudança na ordem de fluxo para os tratamentos, que se iniciou com os maiores valores para fezes bovinas de corte, seguido de fezes de caprinos, posteriormente bovinos de leite, ovinos e equino respectivamente com valores de 870, 385, 100, 42 e $-3 \text{ ng CH}_4 \text{ g}^{-1} \text{ solo seco dia}^{-1}$. Entre os dias 24 e 37 DAA os fluxos de CH_4 foram maiores, para os tratamentos de bovino de corte e leite. Aos 94 DAA, todos os tratamentos apresentaram menores valores e de influxo, 0, -9, -20, -20, -35 $\text{ng CH}_4 \text{ g}^{-1} \text{ solo seco dia}^{-1}$ para fezes de caprinos, ovinos, bovinos de corte, bovinos de leite e equinos, respectivamente.

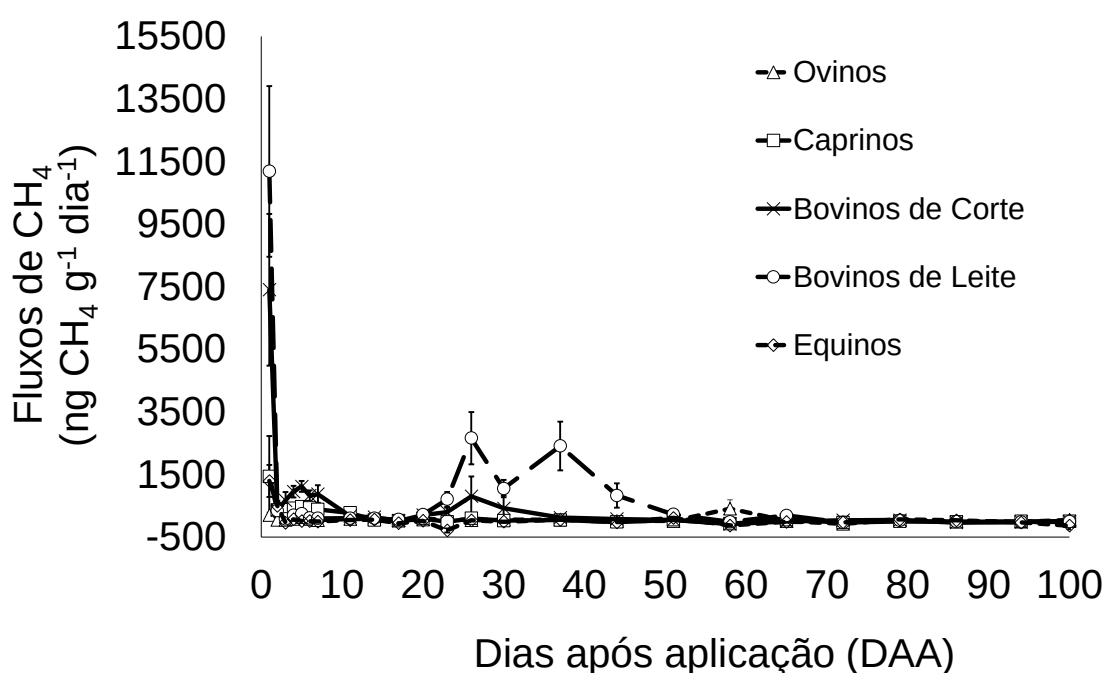


Figura 2. Fluxos de CH_4 ($\text{ng CH}_4 \text{ g}^{-1} \text{ solo seco dia}^{-1}$) durante 100 dias de incubação após a aplicação de fezes de ovinos, caprinos, bovinos de corte, bovinos de leite e equinos. As barras indicam o erro padrão das médias

Para o N_2O , os maiores fluxos foram observados para o tratamento fezes de caprino, seguido por ovino, bovino de corte, bovino de leite e equinos durante os 100 dias de incubação (Figura 3). Todos os tratamentos apresentaram estabilização das emissões após 58 DAA. No 1 DAA, o tratamento com fezes de ovinos apresentou o maior fluxo ($180 \text{ ng } N_2O \text{ g}^{-1} \text{ solo seco dia}^{-1}$) seguido pelos tratamentos de fezes de bovinos de corte, bovinos de leite, caprinos e equinos ($58, 51, 35$ e $31 \text{ ng } N_2O \text{ g}^{-1} \text{ solo seco dia}^{-1}$, respectivamente). O maior pico na emissão de N_2O ($2620 \text{ ng } N_2O \text{ g}^{-1} \text{ solo seco dia}^{-1}$) ocorreu para o tratamento fezes de caprinos no 23 DAA, este tratamento apresentou fluxos 2 vezes maior do que o observado em fezes de bovinos de corte ($886 \text{ ng } N_2O \text{ g}^{-1} \text{ solo seco dia}^{-1}$). O menor fluxo foi observado para o tratamento com fezes de equinos ($-42 \text{ ng } N_2O \text{ g}^{-1} \text{ solo seco dia}^{-1}$). Fluxos negativos foram encontrados nos tratamentos com fezes de equinos e bovinos de leite a partir do 20 e 23 DAA respectivamente.

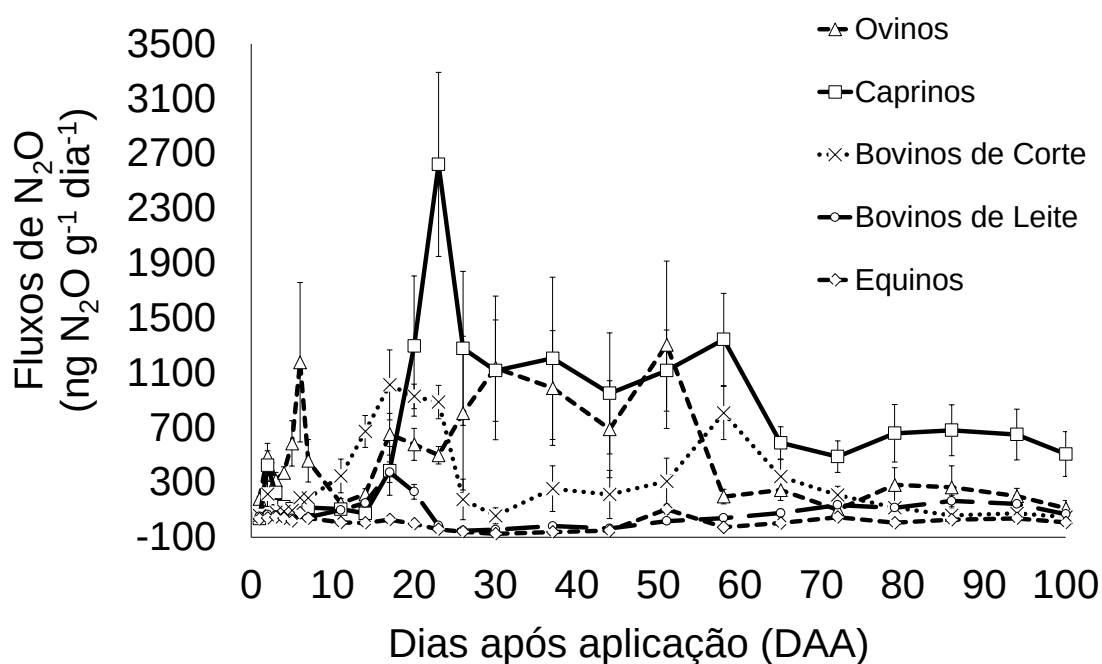


Figura 3. Fluxos de N_2O ($\text{ng } N_2O \text{ g}^{-1} \text{ solo seco dia}^{-1}$) durante 100 dias de incubação após a aplicação de fezes de ovinos, caprinos, bovinos de corte, bovinos de leite e equinos. As barras indicam o erro padrão das médias

4.2. N-mineral

As concentrações de N mineral no solo após 100 dias de incubação estiveram próximos entre si em todos os tratamentos, e acima dos valores encontrados no solo pré-incubação. Os valores encontrados nos tratamentos fezes de ovinos, caprinos, bovinos de corte, bovinos de leite e equinos foram, respectivamente, 11,25, 14,20, 13,29, 14,00, 12,18 mg N-NH₄ kg⁻¹ solo seco e 12,20, 6,69, 13,99, 11,06, 13,84 mg N-NO₃ kg⁻¹ solo seco.

4.3. Razão CH₄ e N₂O/MS fezes e Razão N₂O emitida/N-total fezes

Para a variável razão C-CH₄/MS fezes, os tratamentos diferiram entre si (Figura 4a). Observou-se que o tratamento composto por fezes de bovinos de leite foi maior que os demais tratamentos com emissões de $363,93 \pm 86,45$, seguido por fezes de bovinos de corte com emissões de $111,78 \pm 36,41$. Enquanto os tratamentos com fezes de caprinos, ovinos e equinos não apresentaram diferenças significativas entre si, com emissões em $22,36 \pm 9,57$, $13,72 \pm 3,46$ e $7,10 \pm 6,62$, respectivamente.

Para a variável Razão N-N₂O/MS fezes verificou-se que os tratamentos diferiram entre si (Figura 4b). O tratamento com fezes de caprinos apresentou maior emissão $8,93 \pm 0,63$ em relação aos demais, seguido pelos tratamentos contendo fezes de ovinos $6,77 \pm 1,02$, bovinos de corte $5,44 \pm 0,53$, bovinos de leite $2,68 \pm 0,21$ e para as fezes de equinos $0,82 \pm 0,21$.

Os tratamentos diferiram entre si para a variável razão N-N₂O/N-total (Figura 4c). As maiores razões foram para fezes de caprinos $2,97 \pm 0,39$ que não diferiu das fezes de bovinos de corte $2,08 \pm 0,39$, que por sua vez foram maiores que os demais tratamentos. As menores razões N-N₂O/N-total foram para os tratamentos com fezes de bovinos de leite $0,72 \pm 0,11$, ovinos $1,48 \pm 0,44$ e equinos $0,05 \pm 0,06$ que não houve diferença significativa entre si.

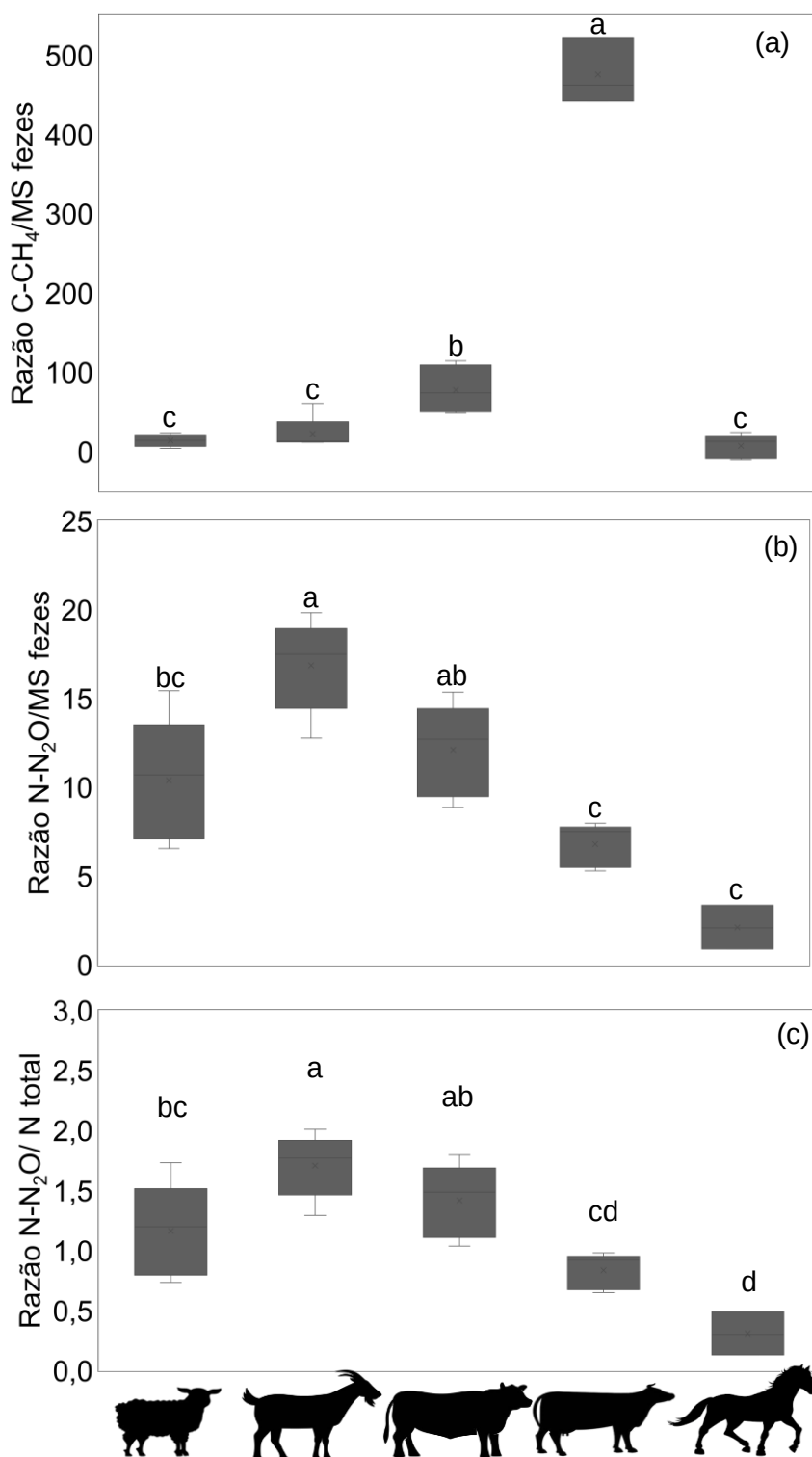


Figura 4. Razão N-N₂O/MS fezes (a), razão C-CH₄/MS fezes (b), razão N-N₂O/N-total (c) de fezes de ovinos, caprinos, bovinos de corte, bovinos de leite e equinos. Médias seguidas de letras iguais entre espécies indicam que não houve diferença significativa pelo teste de Tukey-HSD a 5%

4.4. Efeito da composição química das fezes nas emissões de CH₄ e N₂O

As emissões cumulativas de CH₄ apresentaram correlação negativa com o teor de matéria orgânica ($r = -0,65$) e fibra insolúvel em detergente neutro ($r = -0,59$), e correlação positiva com nitrogênio não proteico ($r = 0,52$) (Tabela 3). Para as emissões cumulativas de N₂O houve correlação positiva com o nitrogênio total ($r = 0,82$), nitrogênio insolúvel em detergente neutro ($r = 0,77$) e nitrogênio insolúvel em detergente ácido ($r = 0,63$). No entanto, apresentou correlação negativa com a fibra insolúvel em detergente ácido ($r = -0,70$) e relação carbono/nitrogênio ($r = -0,70$).

Tabela 3. Coeficientes de correlação de Pearson (r) entre emissões cumulativas de N₂O ou CH₄ de fezes com as variáveis explicativas

Variáveis	N ₂ O	CH ₄
Matéria seca	0,59*	-0,37
Matéria orgânica	0,21	-0,65**
Fibra insolúvel em detergente neutro	- 0,01	-0,59*
Fibra insolúvel em detergente ácido	- 0,70***	0,09
Nitrogênio total	0,82***	-0,09
Nitrogênio não proteico	0,26	0,52**
Nitrogênio insolúvel em detergente neutro	0,77***	-0,27
Nitrogênio insolúvel em detergente ácido	0,63**	-0,29
Carbono total	-0,27	-0,19
Relação carbono/nitrogênio	-0,70***	-0,09

Significância: *P < 0,05, **P < 0,01, ***P < 0,001.

5. DISCUSSÃO

Para que houvesse melhor estimativa das emissões agrícolas de gases de efeito estufa no Brasil, medimos durante 100 dias os fluxos de CH₄ e N₂O em fezes de ovinos, caprinos, bovinos de leite, bovinos de corte e equinos. A estratégia de utilizar diferentes espécies permitiu que fossem avaliadas fezes com composições químicas distintas (MS: 150,99 – 425,36), (MO: 828,58 – 906,24), (FDN: 500,31 – 649,72), (FDA: 248,74 – 432,36), (NT: 18,59 – 39,01), (NNP: 125,22 – 252,70), (NIDN: 6,03 – 13,82), (NIDA: 3,78 – 5,67), (CT: 457,45 – 533,25), (Relação C/N: 12,99 – 28,68).

5.1. Comportamento dos fluxos de CH₄ e N₂O

Como observado, assim que houve a deposição das fezes no solo, houve aumento nos fluxos de CH₄ (Figura 2). Os fluxos de CH₄ são influenciados inicialmente por uma liberação parcial de CH₄ pelas fezes, cuja a origem é da fermentação entérica, além do CH₄ produzido pela próprias fezes frescas, que é favorecido por uma população metanogênica, ambiente anaeróbio e conteúdo de C orgânico altamente lábil (Saggar et al., 2004; Maljanen et al., 2012; Nichols et al., 2016).

Em nosso estudo, os maiores fluxos de CH₄ ocorreram no primeiro dia após a aplicação das fezes, em seguida no segundo DAA diminuiu a níveis basais até aos 23 e 37 DAA, que voltou a ter picos de produção de CH₄ nos tratamentos com fezes de bovinos de leite e corte. No mesmo sentido, nas emissões de N₂O verificou-se um pico das emissões na primeira semana, com maior emissão para as fezes de ovinos, porém os maiores fluxos alternaram entre a 3 e 9 semana após aplicação dos tratamentos (Figura 3). Esse comportamento nos fluxos podem estar relacionados com as taxas de mineralização do N orgânico que fornece substrato para atividades dos microorganismos. Esse comportamento foi identificados por Kyvsgaard et al. (2000) que avaliaram as taxas de mineralização do N derivado de fezes de ovinos no solo.

5.2. Fração N emitida na forma de N₂O

De acordo com o IPCC, (2019), o fator de emissão é utilizado para estimar a fração de N₂O emitida a partir de N de urina e fezes depositados por animais em pastagem. Os fatores de emissão agregado são de 0,4 e 0,3% para bovinos e ovinos, respectivamente, e pode ser ainda desagregado por tipo de excreta (urina e esterco) e por clima (seco e úmido). Para espécies como caprinos e equinos são utilizados os mesmos FE dos ovinos. Em nosso estudo, verificamos resultados divergentes da literatura, com maiores frações de N emitida na forma de N₂O para as fezes de caprinos 2,97%, bovinos de corte 2,08%, ovinos 1,48%, bovinos de leite 0,72% e equinos 0,05%. Essas diferenças entre as frações de N emitido na forma de N₂O

possivelmente esteja relacionado com o frações de C mais recalcitrantes das fezes, que ocasiona numa imobilização do N.

Nesse estudo, os valores da fração de N emitida na forma de N_2O são superiores ao relatados em outros trabalhos, isso se deve ao fato que ensaios de incubação perda de N por llixiviação é limitada.

5.3. Efeito da composição química das fezes

A qualidade das fezes influencia diretamente as emissões cumulativas CH_4 pelas fezes, com o teor de MS teve responsabilidade parcial nas emissões, porém, outros fatores poderiam explicar essas emissões, como as diferenças no conteúdo de N das fezes (Zhu et al., 2018). Neste estudo, o teor de MS das fezes não resultou em efeito significativo nas emissões cumulativas CH_4 , o que sugere que o efeito da umidade sob as emissões cumulativas de CH_4 seja dependentes de um conjunto de fatores.

O carbono presente nas fezes é utilizado pelos microorganismos metanogênicos para produção de CH_4 . Segundo Sagggar et al, (2004), quanto maior o teor de C presente nas fezes, maior será a produção de CH_4 . Nesse estudo foi possível identificar que o aumento do teor de C não influenciou significativamente as emissões de CH_4 . Por outro lado, foi observado uma correlação negativa significativa com a FDN, na fração de hemicelulose. A hemicelulose é a fração de C menos recalcitrante, o que diminuiu a disponibilidade de substrato para ser utilizado pelos microorganismos metanogênicos e conseqüentemente menor produção de metano.

A emissão cumulativa de CH_4 é determinada pelo balanço entre os processos de metanogênese e metanotrófia no solo. A entrada de N pode favorecer a atividade do microorganismos metanotróficos, estimulando o consumo de CH_4 (Bodelier e Laanbroek, 2004). Uma correlação positiva significativa foi encontrada com o teor de NNP das fezes e as emissões cumulativas de CH_4 das fezes (Tabela 3). Esse efeito possivelmente se deve a inibição competitiva de MMO por amônia (Dunfield e Knowles, 1995). Além de atuar na oxidação do CH_4 , a MMO possui capacidade de converter amônia em nitrito, o que reduzirá a quantidade de CH_4 oxidada pelas bactérias metanotróficas. Schnell e Rei, (1995), relatam que produtos intermediários

e finais da oxidação metanotrófica da amônia, como hidroxilamina e nitrito, podem ser tóxicos para as bactérias metanotróficas.

A interação entre as fezes depositadas no solo e a comunidade microbiana do solo pode ser restringida pelo alto teor de MS, o que irá reduzir no potencial de infiltração do N, reduzindo a fração de N perdida na forma de N_2O (Van der Weerden et al., 2011). Neste estudo, não houve esse efeito na diminuição das emissões de N_2O devido ao alto teor de MS, o que ocorreu foi um efeito contrario. O teor de MS favoreceu ao aumento das emissões cumulativa de N_2O , isso sugere que o efeito do teor de MS nas emissões de N_2O não deve ser observado isoladamente, mas sim em conjunto com outras variáveis como relação C/N. Para explicar essas interações, mais estudos correlacionando emissões de N_2O , composição química das fezes e caracterização da microbiota devem ser realizados.

A maior parte do N nas fezes está presente na forma orgânica (Haynes e Williams, 1993), esse fator aliado a altos níveis de C orgânico nas fezes, pode ocasionar à imobilização temporária do N durante a decomposição do C após a deposição das fezes no solo (Krol et al., 2016). Neste estudo, ao avaliar o efeito da composição química das fezes nas emissões cumulativas de N_2O das fezes, observou-se que o teor de N total é o que melhor explica as variações nas emissões de N_2O , e, quanto maior a fração de FDA nas fezes, menor a emissão cumulativa N_2O (Tabela 3). Há uma relação inversa das emissões cumulativas N_2O das fezes com a relação C/N, ou seja, quanto mais carbono derivado da celulose menos N_2O produzido, pois esta fração reflete o teor de resíduos alimentares que não foram digeridos pelo animal e possui maior resistência a degradação pelos microorganismos presentes no solo.

Uma correlação significativa foi encontrada entre as taxas de mineralização do N presente nas fezes o que sugere que ocorra uma decomposição mais lenta (Kjvsgaard et al., 2000), o que irá diminuir a disponibilidade de NH_4^+ e NO_3^- absorção por plantas ou para atividade de microrganismos que implica na diminuição da produção de N_2O .

Nesse sentido, o teor de FDA pode aumentar a relação C/N e influenciar na redução das emissões cumulativas N_2O . Porém é pertinente salientar que apesar do teor de FDA advindo das fezes reduzir emissões cumulativas de N_2O , essa mesma fração pode influenciar no aumento da produção de CH_4 entérico.

De acordo Klemetsson et al. (2005), relações de C/N das fezes abaixo de 25, aumentam as emissões de N_2O . A relação C/N encontrada neste estudo, corrobora com esses resultados, o que pode ser explicada pela estimulação microbiana em condições ideais de umidade e disponibilidade de N, estimulando as maiores emissões de N_2O .

6. CONCLUSÃO

Este estudo é o primeiro a correlacionar o efeito da composição química das fezes de diferentes espécies de herbívoros nas emissões de N_2O e CH_4 . Nossos resultados corroboram com outros trabalhos que demonstram o aumento das emissões de N_2O a medida que se aumenta o teor de NT e reduz a relação C/N. Este estudo também demonstra a necessidade de que mais pesquisas sejam desenvolvidas avaliando as interações entre umidade e microbiota das fezes com as emissões de N_2O .

Quanto as emissões de CH_4 , foi possível observar que fezes com frações de C e N menos recalcitrantes são mais facilmente degradados, o que diminui a quantidade de substrato para os microorganismos metanogênicos, e reduz as emissões de CH_4 .

7. REFERÊNCIAS

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., 2012. Selection of the most suitable sampling time for static chambers for the estimation of daily mean N_2O flux from soils. **Soil Biology and Biochemistry** 46, 129–135. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2011.11.022>.

ANKOM, 2006a. Neutral detergent fiber in feeds. Filter bag technique (for A200, A200I).

ANKOM, 2006b. Acid detergent fiber in feeds. Filter bag technique (for A200, A200I).

ANKOM, 2017. Acid detergent fiber in feeds -filter bag technique (for A2000 and A2000I): ADF method 12 1–2.

AOAOC, 1995. **Association of Official Analytical Chemists International**, 1995.

Bateman, E.J., Baggs, E.M., 2005. Contributions of nitrification and denitrification to N₂O emissions from soils at different water-filled pore space. **Biology and Fertility of Soils** 41, 379–388. <https://doi.org/10.1007/s00374-005-0858-3>

Bender, M., Conrad, R., 1992. Kinetics of CH₄ oxidation in oxic soils exposed to ambient air or high CH₄ mixing ratios. **FEMS Microbiology Letters** 101, 261–270. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1992.tb05783.x>

Bender, M., Conrad, R., 1993. Kinetics of methane oxidation in oxic soils. **Chemosphere** 26, 687–696. [https://doi.org/10.1016/0045-6535\(93\)90453-C](https://doi.org/10.1016/0045-6535(93)90453-C)

Bertram, J.E., Clough, T.J., Sherlock, R.R., Condron, L.M., O'Callaghan, M., Wells, N.S., Ray, J.L., 2009. Hippuric acid and benzoic acid inhibition of urine derived N₂O emissions from soil. **Glob. Chang. Biol.** 15, 2067–2077.

Bodelier, P.L.E., Laanbroek, H.J., 2004. Nitrogen as a regulatory factor of methane oxidation in soils and sediments. **FEMS Microbiol. Ecol.** 47, 265–277.

Bolan, N.S., Saggar, S., Luo, J., Bhandral, R., Singh, J., 2004. Gaseous Emissions of Nitrogen from Grazed Pastures: Processes, Measurements and Modelling, Environmental Implications, and Mitigation, in: **Advances in Agronomy**. pp. 37–120. [https://doi.org/10.1016/S0065-2113\(04\)84002-1](https://doi.org/10.1016/S0065-2113(04)84002-1)

Bohnert, D.W., DelCurto, T., Clark, A.A., Merrill, M.L., Falck, S.J., Harmon, D.L., 2011. Protein supplementation of ruminants consuming low-quality cool season forage: Differences in intake and digestibility. **Journal of Animal Science** 89, 3707–3717. <https://doi.org/10.2527/jas.2011-3915>

Braz, S. P., Nascimento Junior, D. D., Cantarutti, R. B., Regazzi, A. J., Martins, C. E., e Fonseca, D. M. D. (2002). Disponibilização dos nutrientes das fezes de bovinos em pastejo para a forragem. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 31(4), 1614-1623.

Braz, S. P., Nascimento Junior, D., Cantarutti, R. B., Regazzi, A. J., Manrtins, C. E., Da Fonseca, D. M., Barbosa, R. A., 2002 Aspectos Quantitativos do Processo de Reciclagem de Nutrientes pelas Fezes de Bovinos sob Pastejo em Pastagens de *Brachiaria decumbens* na Zona da Mata de Minas Gerais. **Revista Brasileira Zootecnia**, v.31, n.2, p. 858-865, (suplemento).

Cai, Y., Wang, X., Tian, L., Zhao, H., Lu, X., Yan, Y., 2014. The impact of excretal returns from yak and Tibetan sheep dung on nitrous oxide emissions in an alpine steppe on the Qinghai-Tibetan Plateau. **Soil Biology and Biochemistry** 76, 90–99. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2014.05.008>

Cai, Y., Chang, S.X., Cheng, Y., 2017. Greenhouse gas emissions from excreta patches of grazing animals and their mitigation strategies. **Earth-Science Reviews** 171, 44–57. <https://doi.org/10.1016/j.earscirev.2017.05.013>

Cameron, K.C., Di, H.J., Moir, J.L., 2013. Nitrogen losses from the soil/plant system: A review. **Annals of Applied Biology** 162, 145–173. <https://doi.org/10.1111/aab.12014>

Castaldi, S., Costantini, M., Cenciarelli, P., Ciccioli, P., Valentini, R., 2007. The methane sink associated to soils of natural and agricultural ecosystems in Italy. **Chemosphere** 66, 723–729.

Cardoso, A. da S., Oliveira, S.C., Januszkiewicz, E.R., Brito, L.F., Morgado, E. da S., Reis, R.A., Ruggieri, A.C., 2019. Seasonal effects on ammonia, nitrous oxide, and methane emissions for beef cattle excreta and urea fertilizer applied to a tropical pasture. **Soil and Tillage Research** 194, 104341. <https://doi.org/10.1016/j.still.2019.104341>

Chadwick, D. R., John, F., Pain, B. P., Chambers, B. J., Williams, J., 2000. Plant uptake of nitrogen from the organic nitrogen fraction of animal manures: a laboratory experiment. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge 134, 159–168.

Chadwick, D.R., Cardenas, L.M., Dhanoa, M.S., Donovan, N., Misselbrook, T., Williams, J.R., Thorman, R.E., McGeough, K.L., Watson, C.J., Bell, M., Anthony, S.G., Rees, R.M., 2018. The contribution of cattle urine and dung to nitrous oxide emissions: Quantification of country specific emission factors and implications for national inventories. **Science of the Total Environment** 635, 607–617. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.04.152>

Conrad, R., 2007. Microbial Ecology of Methanogens and Methanotrophs. **Advances in Agronomy** 96, 1–63. [https://doi.org/10.1016/S0065-2113\(07\)96005-8](https://doi.org/10.1016/S0065-2113(07)96005-8)

Conrad, R., Bak, F., Seitz, H.J., Thebrath, B., Mayer, H.P., Schütz, H., 1989. Hydrogen turnover by psychrotrophic homoacetogenic and mesophilic methanogenic bacteria in anoxic paddy soil and lake sediment. **FEMS Microbiology Letters** 62, 285–293. [https://doi.org/10.1016/0378-1097\(89\)90010-4](https://doi.org/10.1016/0378-1097(89)90010-4)

Crutzen, P. J., Aselmann, I., Seiler, W., 1986. Methane production by domestic animals, wild ruminants, other herbivorous fauna and humans. **Tellus B.** 38B, 271–284.

de Bastos, D.F., Magiero, E.C., Tomazi, M., Schirmann, J., Veloso, M.G., de Faccio Carvalho, P.C., Bayer, C., 2020. A 3-year assessment of nitrous oxide emission factors for urine and dung of grazing sheep in a subtropical ecosystem. **Journal of Soils and Sediments** 20, 982–991. <https://doi.org/10.1007/s11368-019-02456-7>

Delevatti, L.M., Cardoso, A.S., Barbero, R.P., Leite, R.G., Romanzini, E.P., Ruggieri, A.C., Reis, R.A., 2019. Effect of nitrogen application rate on yield, forage quality, and animal performance in a tropical pasture. **Scientific Reports** 9, 1–9. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-44138-x>

Dijkstra, J., Oenema, O., van Groenigen, J.W., Spek, J.W., van Vuuren, A.M., Bannink, A., 2013. Diet effects on urine composition of cattle and N₂O emissions. **Animal: an international journal of animal bioscience** 7 Suppl 2, 292–302. <https://doi.org/10.1017/S1751731113000578>

Doane, T.A., Horváth, W.R., 2003. Spectrophotometric determination of nitrate with a single reagent. **Analytical Letters** 36, 2713–2722. <https://doi.org/10.1081/AL-120024647>

Embrapa, 2018. Sistema Brasileiro de Classificação de Solos, **5th ed. EMBRAPA.**

Fireston, M.K., Davidson, E.A., 1989. Microbiological Basis of NO and N₂O Production and Consumption in Soil. **Exchange of trace gases between ecosystems and the atmosphere.**

Foster, 1995. Soil nitrogen, in: Alef K, Nannipieri P (Eds) **Methods in Applied Soil Microbiology and Biochemistry**. Academic, San Diego, pp. 79–87.

Gao, X., Thomas, B.W., Stoeckli, J., Liu, K., Beck, R., Hao, X., 2016. Methane and Nitrous Oxide Emissions from Cattle Dung and Urine Patches on a Tame Pasture, in: **Proceedings 10th International Rangeland Congress**. pp. 691–692.

Gardiner, C.A., Clough, T.J., Cameron, K.C., Di, H.J., Edwards, G.R., de Klein, C.A.M., 2016. Potential for forage diet manipulation in New Zealand pasture ecosystems to mitigate ruminant urine derived N₂O emissions: a review. **New Zealand Journal of Agricultural Research** 59, 301–317. <https://doi.org/10.1080/00288233.2016.1190386>

Gomide, C.A.M., Paciullo, D.S.C., Morenz, M.J.F., Deresz, F., Lopez, F.C.F., 2012. Potencial das forrageiras tropicais para a produção de leite a pasto. **Informe Agropecuário (Belo Horizonte)** 33, 80–91.

Hansen, S., Mæhlum, J.E., Bakken, L.R., 1993. N₂O and CH₄ fluxes in soil influenced by fertilization and tractor traffic. **Soil Biology and Biochemistry** 25, 621–630. [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(93\)90202-M](https://doi.org/10.1016/0038-0717(93)90202-M)

Ho, A., El-Hawwary, A., Kim, S.Y., Meima-Franke, M., Bodelier, P., 2015. Manure-associated stimulation of soil-borne methanogenic activity in agricultural soils. **Biology and Fertility of Soils** 51, 511–516. <https://doi.org/10.1007/s00374-015-0995-2>

Holter, P., 1991. Concentration of oxygen, carbon dioxide and methane in the air within dung pats. **Pedobiologia** 35, 381–386.

Jarvis, S.C., Lovell, R.D., Panayides, R., 1995. Patterns of methane emission from excreta grazing animals. **Soil Biology and Biochemistry** 27, 1581–1588.

Jones, H.A., Nedwell, D.B., 1993. Methane emission and methane oxidation in land-fill cover soil. **FEMS Microbiology Letters** 102, 185–195. [https://doi.org/10.1016/0378-1097\(93\)90201-C](https://doi.org/10.1016/0378-1097(93)90201-C)

King, G.M., Roslev, P., Skovgaard, H., 1990. Distribution and rate of methane oxidation in sediments of the Florida Everglades. **Applied and Environmental Microbiology** 56, 2902–2911. <https://doi.org/10.1128/aem.56.9.2902-2911.1990>

Kyvsgaard, P., Sørensen, P., Møller, E., Magid, J., 2000. Nitrogen mineralization from sheep faeces can be predicted from the apparent digestibility of the feed. **Nutrient Cycling in Agroecosystems** 57, 207–214.

Krol, D.J., Carolan, R., Minet, E., McGeough, K.L., Watson, C.J., Forrester, P.J., Lanigan, G.J., Richards, K.G., 2016. Improving and disaggregating N₂O emission factors for ruminant excreta on temperate pasture soils. **Science of the Total Environment** 568, 327–338. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.06.016>

Lancaster, R. J., 1949. Estimation of digestibility of grazed pasture from faeces nitrogen. **Nature** 163, 330–331.

Le Mer, J., Roger, P., 2001. Production, oxidation, emission and consumption of methane by soils: A review. **European Journal of Soil Biology** 37, 25–50. [https://doi.org/10.1016/S1164-5563\(01\)01067-6](https://doi.org/10.1016/S1164-5563(01)01067-6)

Licitra, G., Hernandez, T.M., Van Soest, P.J., 1996 Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. **Animal Feed Science Technology** 57, 347–358.

Luo, J., Tillman, R.W., Ball, P.R., 2000. Nitrogen loss through denitrification in a soil under pasture in New Zealand. **Soil Biology and Biochemistry** 32, 497–509. [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(99\)00179-0](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(99)00179-0)

Luo, J., Ledgard, S.F., Lindsey, S.B., 2008. A test of a winter farm management option for mitigating nitrous oxide emissions from a dairy farm. **Soil Use Manag.** 24, 121–130.

Maljanen, M., Martikkala, M., Koponen, H.T., Virkajarvi, P., Martikainen, P.J., 2007. Fluxes of nitrous oxide and nitric oxide from experimental excreta patches in boreal agricultural soil. **Soil Biol. Biochem.** 39, 914–920.

Maljanen, M., Virkajärvi, P., e Martikainen, P.J. Dairy cow excreta patches change the boreal grass swards from sink to source of methane. **Agricultural and food science.** 21: 91-9991

Malyan, S.K., Bhatia, A., Kumar, A., Gupta, D.K., Singh, R., Kumar, S.S., Tomer, R., Kumar, O., Jain, N., 2016. Methane production, oxidation and mitigation: A mechanistic understanding and comprehensive evaluation of influencing factors. **Science of the Total Environment** 572, 874–896. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.07.182>

Mason, V.C., e Frederiksen, W., 1979. Partitioning of nitrogen in sheep faeces with detergent solutions, and its application to the estimation of the true digestibility of dietary nitrogen and the excretion of non-dietary faecal nitrogen. **Zeitschrift fur Tierphysiologie, Tiererna'hrung and futtermittelkunde** 41:121–131.

Mazzetto, A.M., Barneze, A.S., Feigl, B.J., Van Groenigen, J.W., Oenema, O., Cerri, C.C., 2014. Temperature and moisture affect methane and nitrous oxide emission from bovine manure patches in tropical conditions. **Soil Biology and Biochemistry** 76, 242–248. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2014.05.026>

Mosier, A., Schimel, D., Valentine, D., Bronson, K., Parton, W., 1991. Methane and nitrous oxide fluxes in native, fertilized and cultivated grasslands. **Nature** 350, 330–332.

Nichols, K. L., Del Grosso, S. J., Derner, J. D., Folletta, R. F., ,Archibequec, S. L., Stewart, C. E., Paustian, K. H., 2016. Nitrous oxide and methane fluxes from cattle excrement on C3 pasture and C4-dominated shortgrass steppe. **Agriculture, Ecosystems and Environment**. 225 104–115. <http://dx.doi.org/10.1016/j.agee.2016.03.026>

Nicolardot, B., Recous, S., Mary, B., 2001. Simulation of C and N mineralization during crop residue decomposition: a simple dynamic model based on the C: N ratio of the residues. **Plant and Soil** 228, 83–103.

Powell, J.M., Ikpe, F.N., Somda. Z.C., 1999. Crop yield and fate of nitrogen and phosphorus after application of plant material or faeces to soil. **Nutr. Cycling Agroecosyst.** 52:215–226.

Powell, J. M., Wattiaux, M. A., Broderick, G. A., Moreira, V. R., Casler, M. D., 2006. Dairy Diet Impacts on Fecal Chemical Properties and Nitrogen Cycling in Soils. **SOIL SCI. SOC. AM. J.**, VOL. 70.

Rastogi, G., Ranade, D.R., Yeole, T.Y., Gupta, A.K., Patole, M.S., Shouche, Y.S., 2008. Molecular analyses of methanogen diversity associated with cattle dung. **World Journal of Microbiology and Biotechnology** 24, 2973–2979. <https://doi.org/10.1007/s11274-008-9840-1>

Ravetto, E.S., Renna, M., Probo, M., Lussiana, C., Battaglini, L.M., Lonati, M., Lombardi, G., 2017. Relationships between botanical and chemical composition of forages: a multivariate approach to grasslands in the Western Italian Alps. **J. Sci. Food Agric.** 97, 1252–1259.

Ravishankara, A. R., Daniel, J. S., Portmann, R. W., 2009 Nitrous Oxide (N₂O): The dominant ozone depleting substance emitted in the 21st Century. **Science**. 326, No. 5949. DOI: [10.1126/science.1176985](https://doi.org/10.1126/science.1176985)

ROHSTOFFE, F. N., 2010 Guia prático do biogás: geração e utilização. **Ministério da Nutrição, Agricultura e Defesa do Consumidor da Alemanha**.

Saggar, S., Bolan, N.S., Bhandral, R., Hedley, C.B., Luo, J., 2004. A review of emissions of methane, ammonia, and nitrous oxide from animal excreta deposition and farm effluent application in grazed pastures. **N. Z. J. Agric. Res.** 47, 513–544.

SAGGAR, S.; HEDLEY, C.B.; GILTRAP, D.L.; LAMBIE, S.M. Measured and modeled estimates of nitrous oxide emission and methane consumption from a sheep-grazed pasture. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 122, p. 357-365, 2007.

Saggar, S., Luo, J., Gill, K.D., Neha, J., 2011. Intensification in Pastoral Farming: Impacts on Soil Attributes and Gaseous Emissions. **Soil Health and Climate Change** 207–236.

Selbie, D.R., Cameron, K.C., Di, H.J., Moir, J.L., Lanigan, G.J., Richards, K.G., 2014. The effect of urinary nitrogen loading rate and a nitrification inhibitor on nitrous oxide emissions from a temperate grassland soil. **Journal of Agricultural Science** 152, S159–S171. <https://doi.org/10.1017/S0021859614000136>

Signor, D., Cerri, C.E.P., 2013. Emissões de óxido nitroso em solos agrícolas: Uma revisão. **Pesquisa Agropecuária Tropical** 43, 322–338. <https://doi.org/10.1590/S1983-40632013000300014>

Šimek, M., Cooper, J.E., 2002. The influence of soil pH on denitrification: Progress towards the understanding of this interaction over the last 50 years. **European Journal of Soil Science** 53, 345–354. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2389.2002.00461.x>

Smith, K.A., Thomson, P.E., Clayton, H., McTaggart, I.P., Conen, F., 1998. Effects of temperature, water content and nitrogen fertilisation on emissions of nitrous oxide by soils. **Atmospheric Environment** 32, 3301–3309. [https://doi.org/10.1016/S1352-2310\(97\)00492-5](https://doi.org/10.1016/S1352-2310(97)00492-5)

Somda, Z.C., Powell, J.M., Fernandez-Rivera, S., Reed, J.D., 1995. Feed factors affecting nutrient excretion by ruminants and fate of nutrients when applied to soil. p. 227–246. In J.M. Powell et al. (ed.) *Livestock and sustainable nutrient cycles in mixed-farming systems of Sub-Sahara Africa. Volume II: Technical Papers, Proceeding of an International Conference held in Addis Ababa*, Ethiopia, 22–26 Nov. 1993. ILCA International Livestock Center for Africa (ILCA), Addis Ababa, Ethiopia.

Sørensen, P., Jensen, E.S., Nielsen, N.E., 1994. Labeling of animal manure nitrogen with ¹⁵N. **Plant Soil** 162:31–37.

Sørensen, P., Weisbjerg, M. R., Lund, P., 2003. Dietary effects on the composition and plant utilization of nitrogen in dairy cattle manure. **J. Agric. Sci.** 141:79–91.

Spek, J. W., Dijkstra, J., van Duinkerken, G., Hendriks, W. H., Bannink, A., 2013. Prediction of urinary nitrogen and urinary urea nitrogen excretion by lactating dairy cattle in northwestern Europe and North America: A meta-analysis. **J. Dairy Sci.** 96:4310–4322. <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2012-6265>

Sutton, M., 2011. Too much of a good thing? **Science Translational Medicine** 5, 5–7. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3008071>

Takai, Y., 1970. The mechanism of methane fermentation in flooded paddy soil. **Soil Science and Plant Nutrition** 16, 238–244. <https://doi.org/10.1080/00380768.1970.10433371>

Tiedje, J., 1988. Ecology of denitrification and dissimilatory nitrate reduction to ammonium. **Biology of anaerobic microorganisms**.

Topp, E., Pattey, E., 1997. Soils as sources and sinks for atmospheric methane. **Canadian Journal of Soil Science** 77, 167–178. <https://doi.org/10.4141/s96-107>

Haynes, R.J., Williams, P.H., 1993. Nutrient cycling and soil fertility in the grazed pasture ecosystem. **Advances in Agronomy** 49, 119–199. [https://doi.org/10.1016/S0065-2113\(08\)60794-4](https://doi.org/10.1016/S0065-2113(08)60794-4)

Van der Weerden, T.J., Luo, J., de Klein, C.A.M., Hoogendoorn, C.J., Littlejohn, R.P., Rys, G.J., 2011. Disaggregating nitrous oxide emission factors for ruminant urine and dung deposited onto pastoral soils. **Agriculture, Ecosystems and Environment** 141, 426–436. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2011.04.007>

Van Groenigen, J.W., Kuikman, P.J., De Groot, W.J.M., Velthof, G.L., 2005. Nitrous oxide emission from urine-treated soil as influenced by urine composition and soil physical conditions. **Soil Biology and Biochemistry** 37, 463–473. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2004.08.009>

Van Kessel, J. S., Reeves Iii, J. B., Meisinger, J. J., 2000. Nitrogen and carbon mineralization of potential manure components. **Journal of Environmental Quality** 29, 1669–1677.

Vogel, K.P., Masters, R.A., 2001. Frequency grid - A simple tool for measuring grassland establishment. **Journal of Range Management** 54, 653–655. <https://doi.org/10.2307/4003666>

Yamulki, S., Jarvis, S.C., Owen, P., 1999. Methane Emission and Uptake from Soils as Influenced by Excreta Deposition from Grazing Animals. **Journal of Environmental Quality** 28, 676–682. <https://doi.org/10.2134/jeq1999.00472425002800020036x>

Yeomans, J.C e Bremner, J.M., 1988. A rapid and precise method for routine determination of carbon in soil. **Commun. in Soil Sci.Plant Anal** 19, 1467–1476.

Welten, B.G., Ledgard, S.F., Schipper, L.A., Waller, J.E., Kear, M.J., Dexter, M.M., 2013. Effects of prolonged oral administration of dicyandiamide to dairy heifers on excretion in urine and efficacy in soil. **Agriculture, Ecosystems and Environment** 173, 28–36. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2013.04.003>

Whalen, S.C., Reeburgh, W.S., Sandbeck, K.A., 1990. Rapid methane oxidation in a landfill cover soil. **Applied and Environmental Microbiology** 56, 3405–3411. <https://doi.org/10.1128/aem.56.11.3405-3411.1990>

Williams, P.H., Haynes, R.J., 1995. Effect of sheep, deer and cattle dung on herbage production and soil nutrient content. **Grass and Forage Science** 50, 263–271. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2494.1995.tb02322.x>

Wrage, N., Velthof, G.L., Beusichem, M.L. Van, Oenema, O., 2001. Role of nitrifier denitrification in the production of nitrous oxide 33, 1723–1732.

Zaman, M., Nguyen, M.L., Matheson, F., Blennerhassett, J.D., Quin, B.F., 2007. Can soil amendments (zeolite or lime) shift the balance between nitrous oxide and dinitrogen emissions from pasture and wetland soils receiving urine or urea-N? **Australian Journal of Soil Research** 45, 543–553. <https://doi.org/10.1071/SR07034>

Zaman, M., Sagggar, S., Blennerhassett, J.D., Singh, J., 2009. Effect of urease and nitrification inhibitors on N transformation, gaseous emissions of ammonia and nitrous oxide, pasture yield and N uptake in grazed pasture system. **Soil Biology and Biochemistry** 41, 1270–1280. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2009.03.011>

Zhu, Y., Merbold, L., Pelster, D., Diaz-Pines, E., Wanyama, G.N., Butterbach-Bahl, K., 2018. Effect of Dung Quantity and Quality on Greenhouse Gas Fluxes From Tropical Pastures in Kenya. **Global Biogeochemical Cycles** 32, 1589–1604. <https://doi.org/10.1029/2018GB005949>