

MARIANA NUNES DE SOUZA

**EFEITO DA RELAÇÃO ENERGIA/PROTEÍNA DA DIETA E DA
SUPLEMENTAÇÃO COM EXTRATO TANÍFERO DE *ACACIA MEARNSII* SOBRE
A EXCREÇÃO DE NITROGÊNIO POR OVINOS E A EMISSÃO DE ÓXIDO
NITROSO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência Animal, Área de Concentração: Produção Animal.

Orientador: Henrique M. N. R. Filho

**LAGES, SC
2019**

Ficha catalográfica elaborada pelo programa de geração automática da
Biblioteca Setorial do CAV/UEDESC,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Souza, Mariana Nunes de

Efeito da relação energia/proteína da dieta e da suplementação com extrato tanífero de *Acacia mearnsii* sobre a excreção de nitrogênio por ovinos e a emissão de óxido nítrico / Mariana Nunes de Souza. -- 2019.

63 p.

Orientador: Henrique M. N. Ribeiro Filho

Dissertação (mestrado) -- Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Lages, 2019.

1. Ruminantes. 2. Tanino. 3. Gases de efeito estufa. 4. Mitigação. 5. Fator de emissão. I. Filho, Henrique M. N. Ribeiro . II. Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal. III. Título.

MARIANA NUNES DE SOUZA

**EFEITO DA RELAÇÃO ENERGIA/PROTEÍNA DA DIETA E DA
SUPLEMENTAÇÃO COM EXTRATO TANÍFERO DE *ACACIA MEARNsii*
SOBRE A EXCREÇÃO DE NITROGÊNIO POR OVINOS E A EMISSÃO DE
ÓXIDO NITROSO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, da
Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial à obtenção do título
de Mestre em Ciência Animal, Área de Concentração: Produção Animal.

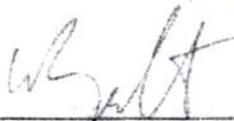
Banca examinadora:

Orientador:



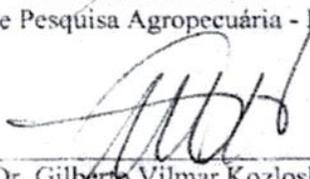
Professor Dr. Henrique M. N. Ribeiro Filho
Universidade do Estado de Santa Catarina - UDESC

Membro:



Dr. Alexandre Berndt
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA

Membro:



Professor Dr. Gilberto Vilmar Kozloski
Universidade Federal de Santa Maria - UFSM

Lages, 20 de fevereiro de 2019

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela saúde, força e coragem para concluir essa importante etapa.

Aos meus pais Luiz e Ana, pelo apoio, incentivo, amparo e suporte em todas as minhas decisões, e principalmente por todo amor recebido. Grata por tudo, amo vocês.

Aos meus avós Antônio e Zulma, por todo apoio, carinho e atenção.

Aos meus irmãos Rodrigo e Thiago, obrigada por todo o apoio e carinho recebido sempre.

Ao professor Dr. Henrique M. N. Ribeiro-Filho, pela oportunidade, confiança, e todas as orientações e ensinamentos que contribuíram para meu crescimento pessoal e profissional.

A Marie Lassalas, por aceitar fazer parte do meu projeto de mestrado, por toda ajuda, responsabilidade, ensinamentos e conversas. Foi essencial na realização do experimento.

Aos colegas de pós-graduação e bolsistas do grupo de pesquisa NURP (Nutrição de ruminantes em pasto) pela ajuda na condução do experimento e na análise dos dados, em principal a bolsista Gabriela Marta Michelon que me acompanhou em toda condução do experimento e análises laboratoriais, e também pela amizade.

A todos os professores do departamento de Produção Animal por todos os ensinamentos, contribuindo para o meu aprendizado e crescimento profissional.

Aos colegas e amigos da Produção Animal, obrigada pelas conversas, e momentos de descontração.

A Universidade do Estado de Santa Catarina pela oportunidade da realização do mestrado e ensino de qualidade.

A Capes pela concessão da bolsa de Mestrado.

A todos muito obrigada.

RESUMO

A pecuária é uma das principais atividades responsáveis pela produção dos gases de efeito estufa (GEE), como o metano (CH₄) e o óxido nitroso (N₂O). No Brasil, 38% das emissões no setor agropecuário são representadas por N₂O, sendo o nitrogênio (N) excretado por animais em pasto a principal fonte de emissões diretas do solo. Com isso, objetiva-se avaliar o ajuste de dietas visando mitigar a emissão de N₂O a partir da relação energia × proteína e da suplementação com extrato tanífero, além de determinar o fator de emissão (FE) nas condições estudadas. Foram avaliados três tratamentos com pré-secado de azevém (*Lolium multiflorum* Lam.) à vontade e diferentes suplementações: 60 g farelo de soja (S), 140 g grão de milho moído + 60 g farelo de soja (SM) e 140 g grão de milho moído + 60 g farelo de soja + 40 g/kg de alimento concentrado de extrato tanífero de *Acacia mearnsii* (SMT). Foram utilizados seis cordeiros da raça Lacaune, distribuídos num delineamento experimental em duplo Quadrado latino 3 × 3, com três períodos de 21 dias (14 de adaptação e sete de coletas). Excretas foram coletadas para análise da composição e aplicação no campo para determinação da emissão de N₂O com uso de câmaras estáticas, com três repetições de área (blocos) por tipo de excreta (fezes ou urina) por tratamento. Os consumos totais de matéria seca (MS) e matéria orgânica (MO) foram maiores nos animais dos tratamentos SM e SMT em comparação ao tratamento S. No entanto, o consumo de N foi similar entre os tratamentos, apresentando média de 18 g/dia. As digestibilidades aparente e verdadeira do N diminuíram com a adição de extrato tanífero no alimento concentrado, apresentando aumento de 16% na excreção fecal de N quando comparado aos tratamentos S e SM. Excreção diária de N na urina foi 12% inferior nos animais recebendo grão de milho na dieta em comparação aos animais que receberam apenas farelo de soja na suplementação, enquanto a inclusão do tanino não se mostrou eficaz para aumentar estas reduções. O fluxo de emissão e a emissão acumulada de N₂O foram similares entre as amostras de fezes das diferentes dietas e a emissão do solo do tratamento controle. No entanto, o fluxo de N₂O das amostras de urina apresentou tendência de redução nas amostras dos animais suplementados com inclusão de grão de milho em comparação aos animais suplementados somente com farelo de soja, sem efeito adicional do extrato tanífero. O FE para fezes foi similar entre os tratamentos com média de 0,18%. O FE médio das amostras de urina foi de 4%, porém apresentou uma tendência de redução para o tratamento SM em 60% quando comparado ao tratamento S, sem efeito da adição do tanino. A suplementação com grão de milho na alimentação de ruminantes é uma prática que permite a diminuição na excreção de N na urina, enquanto o fornecimento do extrato tanífero de *Acacia mearnsii* não se mostrou eficaz. Sempre que possível, FE específicos devem ser utilizados na elaboração de inventários.

Palavras-chave: Ruminantes. Tanino. Gases de efeito estufa. Mitigação. Fator de emissão.

ABSTRACT

Livestock systems are the main activity liable for the greenhouse gases emission (GHG), like methane (CH₄) and nitrous oxide (N₂O). In Brazil, N₂O represents 38% of the total agriculture emission, where, the excreted nitrogen (N) by grazing animals is the principal source of direct emissions from the soil. The objective of this study was to evaluate the adjustment of diets to mitigate the nitrous oxide emission as a function of the relation energy × protein and tannin extract supplementation, as well as to determine the emission factor (EF) under the studied conditions. Three treatments were evaluated using ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam.) haylage *ad libitum* and different supplements: 60 g soybean meal (S), 140 g ground corn + 60 g soybean meal (SC) and 140 g ground corn + 60 g soybean meal + 40 g/kg concentrated feed of *Acacia mearnsii* tannin extract (SCT). Six Lacaune lambs were distributed in a replicated 3 × 3 Latin square experimental design, with three periods of 21 days (14 of adaptation and seven of measurements). Excreta were collected for composition analysis and application in the field to determine the nitrous oxide emission using static chambers, with three repetitions of area (blocks) per excretion type (feces or urine) per treatment. The total dry matter (DM) and organic matter (OM) intake were higher in the SC and SCT treatments compared to the S treatment. However, N intake was similar between treatments, averaging 18 g / day. The apparent and true N digestibilities decreased with the tannin extract addition in the concentrate feed, increasing the fecal N excretion on 16% when compared to the S and SC treatments. Daily urine N excretion was 12% lower in animals receiving corn grain in the diet compared to the animals receiving soybean meal alone, while the tannin inclusion did not show to be effective to improve these reductions. Emission flow and accumulated emission of N₂O were similar between feces samples from different diets and soil emission from the control treatment. However, the flow of N₂O from urine samples showed a tendency of reduction in the samples of the animals supplemented with corn grain inclusion in comparison to the animals supplemented with soybean meal alone, without additional effect of the tannin extract. The EF for feces was similar between treatments, averaging 0.18%. The EF of the urine samples averaged 4% but, showing a tendency to reduce 61% on SC treatment when compared to the S treatment, without tannin addition effect. Supplementation with corn grain in ruminant feeding is a practice that allows to decrease the urinary N excretion, while the supply of the tannin extract of *Acacia mearnsii* was not effective. Whenever possible, the specific EF should be used in the preparation of inventories.

Keywords: Ruminants. Tannin. Greenhouse gases emission. Mitigation. Emission factor.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1 — Delineamento do experimento a campo em blocos ao acaso constituído de três blocos com sete bases metálicas e circulares, com seus respectivos tratamentos de fezes (F), urina (U) e controle (C). 39
- Figura 2 — Dados de temperatura do ar, temperatura do solo e precipitação (A), precipitação e % de poros preenchidos por água (PPA) (B), durante o período experimental. 46
- Figura 3 — Fluxo de emissão do óxido nitroso, após a aplicação das excretas, nos diferentes tratamentos: controle (sem aplicação no solo) e a partir de fezes (A) e urina (B) de cordeiros alimentados com pré-secado de azévem (*Lolium multiflorum*) e suplementação com farelo de soja (S) ou farelo de soja e grão de milho moído (SM) ou farelo de soja, grão de milho moído e tanino (SMT)..... 47

LISTA DE TABELA

- Tabela 1 — Composição química e valor nutritivo do pré-secado de azevém (*Lolium multiflorum*) e dos suplementos utilizados em diferentes tratamentos experimentais oferecidos para cordeiros.....36
- Tabela 2 — Consumo e digestibilidade aparente da matéria seca, matéria orgânica e fibra em detergente neutro, consumo de PDIN e PDIE, e balanço PDR em cordeiros alimentados com pré-secado de azevém (*Lolium multiflorum*) recebendo diferentes tipos de suplementação.....43
- Tabela 3 — Consumo, digestibilidade aparente, digestibilidade verdadeira, excreção e retenção de nitrogênio em cordeiros recebendo diferentes tipos de suplementação.....44
- Tabela 4 — Emissão acumulada e fator de emissão do óxido nitroso nos diferentes tratamentos, controle (sem aplicação de excretas) e a partir de fezes e urina de cordeiros alimentados com pré-secado de azevém (*Lolium multiflorum*) e suplementação com farelo de soja (S) ou farelo de soja e grão de milho moído (SM) ou farelo de soja, grão de milho moído e tanino (SMT).....48
- Tabela 5 — Análise de componentes principais: *eigenvalue*, proporção da variância explicada por cada componente, acumulada e correlações entre os componentes principais (CP) e as variáveis originais.48

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CH ₄	Metano
CHO	Carboidratos
CO ₂	Dióxido de carbono
GEE	Gases de efeito estufa
FDA	Fibra em detergente ácido
FDN	Fibra em detergente neutro
FE	Fator de emissão
h	Hora
ha	Hectare
Mcal	Megacaloria
MO	Matéria orgânica
MOD	Matéria orgânica digestível
MS	Matéria seca
N	Nitrogênio
NH ₃	Amônia
NH ₄	Amônio
N ₂ O	Óxido nitroso
NO ₃	Nitrato
pH	Potencial hidrogênionico
PB	Proteína bruta
PDR	Proteína degradada no rúmen
PDIN	Proteína verdadeira digestível no intestino quando nitrogênio é limitante para síntese microbiana no rúmen
PDIE	Proteína verdadeira digestível no intestino quando energia é limitante para síntese microbiana no rúmen
PNDR	Proteína não degradável no rúmen
PPA	Poros preenchidos por água
TC	Tanino condensado
TH	Tanino Hidrolisável

LISTA DE SÍMBOLOS

$\%$	Porcentagem
$>$	Maior
$<$	Menor
\leq	Menor e igual

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	21
2	REVISÃO DE LITERATURA	23
2.1	UTILIZAÇÃO DE NITROGÊNIO POR RUMINANTES	23
2.2	RELAÇÃO ENERGIA × PROTEÍNA E EXCREÇÃO NITROGENADA.....	24
2.3	SUPLEMENTAÇÃO COM TANINOS E EXCREÇÃO NITROGENADA	25
2.4	EXCREÇÃO DE NITROGÊNIO E EMISSÃO DE ÓXIDO NITROSO POR RUMINANTES EM PASTEJO	27
2.5	FATORES QUE INFLUENCIAM A EMISSÃO DE ÓXIDO NITROSO PROVENIENTE DA EMISSÃO DIRETA DO SOLO	28
3	HIPÓTESES	31
4	OBJETIVOS	33
5	MATERIAL E MÉTODOS	35
5.1	EXPERIMENTO COM ANIMAIS.....	35
5.1.1	Animais, delineamento experimental e tratamentos	35
5.1.2	Amostragem	36
5.1.3	Análises laboratoriais e cálculos.....	37
5.2	EXPERIMENTO A CAMPO.....	38
5.2.1	Descrição local, delineamento experimental e tratamentos.....	38
5.2.2	Emissão de óxido nitroso e fator de emissão	39
5.2.3	Clima e solo	40
5.3	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	41
6	RESULTADOS	43
7	DISCUSSÃO	49
7.1	EFEITO DA RELAÇÃO ENERGIA × PROTEÍNA SOBRE A EXCREÇÃO NITROGENADA	49
7.2	EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE TANINO SOBRE A EXCREÇÃO NITROGENADA	50
7.3	EMISSÃO DE ÓXIDO NITROSO A PARTIR DAS EXCRETAS DEPOSITADAS NO SOLO E FATORES QUE A INFLUENCIAM	51
7.4	FATOR DE EMISSÃO DE ÓXIDO NITROSO A PARTIR DAS EXCRETAS DEPOSITADAS NO SOLO E FATORES QUE A INFLUENCIAM.....	52
8	CONCLUSÃO	55
	REFERÊNCIAS	57

1 INTRODUÇÃO

A baixa eficiência de utilização do N em ruminantes, além de apresentar implicações na produção e na eficiência econômica, também afeta a excreção de N e conseqüentemente a emissão de contaminantes para o meio ambiente (CALSAMIGLIA et al., 2010). Como a deposição de urina animal contém altas concentrações de N prontamente disponível, excedendo o potencial imediato de absorção de plantas (KLEIN et al., 2014), processos de nitrificação e desnitrificação subseqüentes dos compostos nitrogenados em excesso podem resultar em altas emissões de N₂O (VAN GROENIGEN et al., 2005).

Dessa forma, excretas depositadas no solo por ruminantes em áreas de pastagem são uma importante fonte de emissão de N₂O (KROL et al., 2016, ROCHETTE et al., 2014), gás de efeito estufa que está envolvido na destruição do ozônio estratosférico (RAVISHANKARA; DANIEL; PORTMANN, 2009). O N₂O é considerado o terceiro gás com efeito estufa mais importante, apresentando potencial de aquecimento global 298 vezes o do dióxido de carbono (CO₂) durante um período de 100 anos horizonte (DIJKSTRA et al., 2013). No Brasil, 64% das emissões diretas de N₂O são originadas dos solos com exploração agropecuária, sendo dessas 41% representadas por N excretado por animais em pasto (MCTI, 2014).

O fator de emissão, definido como a quantidade de N aplicado no solo que é emitido como N₂O, apresenta valor padrão de 2% entre urina e fezes depositadas no solo por animais em pasto, com margem de 0,7% a 6% (IPCC, 2006). No entanto, diversos trabalhos evidenciam maior FE para urina se comparado as fezes (DIJKSTRA et al. 2013, KROL et al., 2016, LUO et al., 2014). Segundo Klein e Ledgard (2005), o N das fezes está principalmente na forma orgânica, menos volátil, enquanto o N da urina está em grande parte na forma de ureia, a qual é rapidamente hidrolisada no solo e o N ureico nitrificado em nitrato (NO₃) representando cerca de 60% das emissões de N₂O em pastagem.

Portanto, devido a maiores variações na produção de N urinário em comparação à excreção de N fecal, a manipulação de dietas com o objetivo de reduzir a excreção de N na urina (DIJKSTRA et al., 2013) pode se constituir em alternativa para redução das emissões de N₂O. As perdas de N na urina ocorrem, principalmente, quando a proteína degradável no rúmen (PDR) da dieta excede a capacidade de utilização pelos microrganismos ruminais, sendo esta degradada em amônia (NH₃), a qual é absorvida, convertida em ureia no fígado e excretadas na urina (BACH; CALSAMIGLIA; STERN, 2005; COLMENERO; BRODERICK, 2006). Dessa forma, as perdas de N podem ser reduzidas através da

diminuição da degradação proteica no rúmen e/ou aumentando o uso de N pelos microrganismos ruminais (BACH; CALSAMIGLIA; STERN, 2005).

Como forma de modificar a degradação da proteína ruminal, a adição de taninos condensados (TC) na dieta de ruminantes pode aumentar a quantidade de proteína não degradada que sai do rúmen, provavelmente causada pela diminuição das taxas de degradação da proteína pelos microrganismos ruminais (MIN et al., 2003), o que acontece devido a formação de complexos tanino-proteína, reduzindo a concentração de NH_3 ruminal (WAGHORN, 2008). Dessa forma, os taninos condensados podem determinar mudanças no local de excreção de N da urina para as fezes (KLEIN; ECKARD, 2008).

Além disso, a concentração de NH_3 no rúmen, suscetível de ser excretado na urina, pode ser diminuída a partir de uma melhor relação energia \times proteína na dieta dos ruminantes. Desde que a energia não seja limitante, a PDR da dieta pode ser incorporada à proteína microbiana (JARDSTEDT et al., 2017), diminuindo a concentração de NH_3 ruminal (CALSAMIGLIA et al., 2010).

Dessa forma, equilibrar a relação energia \times proteína e/ou a suplementação com tanino na dieta de ruminantes pode reduzir a concentração de NH_3 no rúmen e a excreção de N urinário, forma altamente volátil, constituindo-se em ferramentas para minimizar a emissão de N_2O . Diante do exposto, este trabalho teve como objetivo avaliar o ajuste de dietas visando mitigar a emissão de N_2O a partir da relação energia \times proteína e da suplementação com extrato tanífero, além de determinar o fator de emissão nas condições estudadas.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 UTILIZAÇÃO DE NITROGÊNIO POR RUMINANTES

A proteína do alimento consumida por ruminantes é constituída por proteína degradável no rúmen e proteína não degradável no rúmen (PNDR), sendo a PDR composta por N protéico e N não protéico. De maneira geral, a concentração de proteína que é degradável no rúmen é dependente do nível de consumo de N e da degradabilidade da proteína ingerida. Segundo Bach, Calsamiglia e Stern (2005), o metabolismo do N no rúmen pode ser dividido em degradação da proteína e síntese de proteína microbiana.

Os compostos nitrogenados proteicos são degradados em peptídeos e aminoácidos. Dentro das células microbianas os peptídeos são degradados a aminoácidos, podendo esses serem incorporados na proteína microbiana ou desaminados, formando ácidos graxos voláteis, CO₂ e amônia (TAMMINGA, 1979). O N não proteico presente no alimento libera amônia no rúmen, podendo ser incorporada na proteína microbiana.

Dessa forma, a maioria do N degradável no rúmen libera peptídeos, aminoácidos e, principalmente, amônia. No entanto, quando a concentração de amônia ruminal excede a quantidade que é incorporada no N microbiano, esta é absorvida através do epitélio, entra na circulação portal e é transformada em ureia no fígado, a qual em média é 33% excretada na urina (KOZLOSKI, 2011).

Os compostos nitrogenados que fluem do rúmen consistem em amônia, proteína não degradada, da dieta ou endógena, e proteína microbiana, ocorrendo digestão e absorção no intestino delgado de parte da proteína do alimento que não foi degradada no rúmen e da proteína microbiana. Os compostos nitrogenados digestíveis que chegam até o intestino grosso podem ser utilizados para o crescimento de populações microbianas, sendo assim, o N excretado nas fezes é representado pela proteína indigestível do alimento e por N de origem endógena. Este último pode aumentar em casos de aumento na disponibilidade e atividade fermentativa no intestino grosso (KOZLOSKI, 2011).

Como o rúmen é o ambiente onde ocorre a maior parte da degradação dos alimentos, de acordo com Tamminga (1992) o metabolismo ruminal pode ser atribuído como o principal fator que contribui para o uso ineficiente de N em ruminantes, resultando em perdas desse nutriente. Dessa forma, uma melhor eficiência de utilização da amônia ruminal se torna um fator chave na redução da excreção de N urinário.

Visto isso, é possível reduzir as perdas de N diminuindo a degradação proteica no rúmen e/ou aumentando o uso de N por microrganismos ruminais (BACH; CALSAMIGLIA; STERN, 2005) a partir da modificação da taxa de degradação da proteína e/ou inclusão de carboidratos fermentáveis na dieta, considerando-se estes os principais fatores que determinam a eficiência no uso do N no rúmen (DIJKSTRA et al., 2007).

2.2 RELAÇÃO ENERGIA × PROTEÍNA E EXCREÇÃO NITROGENADA

A partir da manipulação da dieta fornecida aos ruminantes podem ocorrer modificações na fermentação ruminal permitindo melhor utilização do N pelos animais. Desta forma, a disponibilidade de N e energia, bem como suas interações, são considerados como os fatores principais que influenciam no metabolismo ruminal do N (TAMMINGA, 2006).

As perdas de N no ambiente ruminal, a partir de altas concentrações de NH_3 no rúmen, ocorrem devido a um desequilíbrio entre a degradação do N e o uso do N disponível por microrganismos (DIJKSTRA et al., 2013). No entanto, para o uso eficiente do N é necessário haver equilíbrio entre o N disponível no ambiente ruminal e o fornecimento de substratos fermentáveis como fonte de energia (JARDSTEDT et al., 2017), permitindo maior crescimento microbiano e maior incorporação da NH_3 na síntese de proteína microbiana.

A produção otimizada de proteína microbiana por unidade de matéria orgânica fermentável resulta em crescimento microbiano máximo. Sendo assim, maior quantidade de PDR capturada por microrganismos ruminais (BACH; CALSAMIGLIA; STERN, 2005) resulta em menor concentração de NH_3 livre no líquido ruminal. Dessa forma, a disponibilidade de carboidratos (CHO) para a fermentação ruminal é um importante fator para diminuir as perdas de N no rúmen (HRISTOV et al., 2005), permitindo-se aumento na quantidade de proteína microbiana que chega no intestino delgado, a qual possui equilibrado perfil de aminoácidos (CALSAMIGLIA et al., 2010).

Em contraste, quando há limitação de energia a absorção de NH_3 por microrganismos pode ser diminuída aumentando a sua concentração no rúmen, o que é agravado pela ausência de incorporação dos aminoácidos para síntese de proteína microbiana. Neste cenário os aminoácidos desaminados liberam mais NH_3 no ambiente ruminal. Deste modo, tem-se um aumento da concentração de NH_3 no rúmen, e conseqüentemente mais N suscetível a ser excretado na urina.

Hristov et al. (2005) avaliaram diferentes fontes de carboidratos sobre a utilização de amônia em vacas em lactação, e concluíram que o fornecimento de energia prontamente

fermentável pode diminuir as concentrações de amônia no rúmen devido à redução na produção de amônia e incorporação de aminoácidos, ou melhor utilização da amônia ruminal na síntese de proteína microbiana. Estudo de Jardstedt et al. (2017), avaliando vacas Hereford prenhes, recebendo dietas alternativas à base de volumosos, relataram uma relação negativa entre o consumo de energia metabolizável e a excreção de N urinário. O mesmo pode ser observado no trabalho de Miller et al. (2001), os quais avaliaram uma nova variedade de azevém perene com maior quantidade de carboidratos solúveis (alto teor de açúcar) na alimentação de vacas em lactação. Os autores observaram diminuição de N em 8% no total excretado (fezes, urina e leite), e 29% na urina em relação à excreção de vacas alimentadas com azevém contendo concentrações de carboidratos solúveis em água típicas de variedades de azevém perene, apresentando mesmo consumo de N entre os diferentes tratamentos. Portanto, a sincronização do fornecimento de energia \times proteína no rúmen é uma importante ferramenta na melhoria da utilização de substratos proteicos e, conseqüente, diminuição da excreção urinária de N por ruminantes.

2.3 SUPLEMENTAÇÃO COM TANINOS E EXCREÇÃO NITROGENADA

No sentido de manipular a fermentação ruminal a partir de aditivos oriundos de substâncias naturais, pesquisas com adição de taninos na dieta de ruminantes têm sido desenvolvidas devido aos efeitos destes compostos sobre a modificação na taxa da degradação proteica.

Os taninos podem ser classificados como condensados (TC) ou hidrolisáveis (TH), apresentando diferenças na estrutura e peso molecular (geralmente maiores para TC) (FRUTOS et al., 2004). Além disso, de acordo com Makkar, Blümmel e Becker (1995), os TH podem ser degradados por microrganismos do rúmen, enquanto os TC não são hidrolisados no ambiente ruminal.

Taninos condensados são metabólitos secundários das plantas conhecidos como proantocianidinas (WAGHORN, 2008), e pode-se considerar duas características comuns: todos são considerados polifenóis e todos apresentam capacidade de se ligar às proteínas (MUELLER-HARVEY, 2006). Os TC são difundidos em espécies dicotiledôneas e ocorrem com pouca frequência em gramíneas. Porém para apresentarem benefícios na nutrição de ruminantes devem estar presentes nas folhas e são encontrados geralmente em algumas espécies da família Fabaceae, como exemplo, *Lotus corniculatus*, *L. pedunculatus*, *Onobrychis viciifolia* e *Hedysarum coronarium* (WAGHORN, 2008). No entanto, têm sido

utilizados para suplementação na dieta de ruminantes produtos industriais contendo quantidades definidas de taninos, por exemplo, feitos a partir da casca da árvore de Acácia-negra (*Acacia mearnsii*), sendo assim um produto que pode ser utilizado como alternativa às leguminosas forrageiras (GERLACH; PRIES; SÜDEKUM, 2018).

Segundo Makkar (2003), os TC podem apresentar efeitos adversos ou benéficos na nutrição de ruminantes, dependendo de diversos fatores, como a sua concentração, estrutura química, além de outros, como espécies animais, status fisiológico e composição da dieta. Em relação a quantidade oferecida aos animais, concentrações baixas de TC considerando 2-4,5% da MS podem interferir no processo digestivo, reduzindo a degradação proteica ruminal e aumentando o fluxo de N proteico para o abomaso (MIN et al., 2003). Porém, valores superiores a 55 g/kg MS podem reduzir o consumo voluntário e a digestibilidade (MIN et al., 2003).

O efeito principal dos taninos condensados na nutrição de ruminantes é devido a sua capacidade de formar complexos com as proteínas, a partir de ligações de hidrogênio, que são estáveis entre pH 3,5 e 8 (aproximadamente), ou seja, estáveis ao pH ruminal (FRUTOS et al., 2004). Dessa forma, diminui a degradação proteica no rúmen evitando perdas de NH_3 ruminal e, conseqüente, sua excreção de N na urina. Esse efeito do TC foi demonstrado por Carulla et al. (2005), os quais observaram redução de 9% na concentração de amônia ruminal quando utilizaram 41 g/kg MS da dieta na forma de extrato tanífero oriundo da casca de *Acacia mearnsii* oferecido para ovinos.

Porém, mudanças no padrão de fermentação ruminal, a partir da ingestão de taninos, estão associadas a modificações na digestibilidade, o que é evidenciado pelo aumento da excreção fecal de N à adição de tanino na dieta (CARULLA et al., 2005; GRAINGER et al., 2009). Isso pode ocorrer por um aumento na excreção de N fecal metabólico (origem endógena), não diminuindo a quantidade de proteína absorvida da alimentação (FRUTOS et al., 2004), ou ainda devido a uma religação tanino e proteína. Este processo ocorreria porque, após a dissociação no pH baixo do abomaso, o pH no início do intestino ($\approx 5,5$) pode permitir que os complexos tanino-proteína se liguem novamente, impedindo a digestão da proteína (MCNABB et al., 1998).

Carulla et al. (2005) avaliando três forragens distintas e a adição ou não de extrato tanífero de acácia-negra (41 g/kg MS da dieta) na alimentação de ovinos verificaram que a adição de tanino diminui a digestibilidade aparente de 73 para 65%. Em consequência, houve claro aumento na excreção diária de N pelas fezes (+29,6%), e diminuição (-13,5%) na excreção pela urina. O mesmo efeito da adição do TC pode ser observado em um estudo de

Grainger et al. (2009), os quais avaliaram o metabolismo de vacas leiteiras recebendo duas quantidades de TC oriundo de *Acacia mearnsii* (tanino 1 e tanino 2, 166 e 244 g/d de TC, respectivamente), além da dieta controle, sem o aditivo. Os autores observaram diminuição na digestibilidade aparente do N de 71 para 59% e 50%, quando os animais foram suplementados com tanino 1 e 2, respectivamente. Além disso, a adição de tanino aumentou a excreção de N nas fezes e reduziu os valores de N excretado na urina (g/kg de N ingerido) em aproximadamente 34 % para o grupo tanino 1 e 43% no tanino 2. Visto que os TC na dieta de ruminantes apresentam efeito na redução da degradação ruminal do N e conseqüente redução na perda de amônia no rúmen, a suplementação pode ser utilizada para particionar o N para as fezes de forma a diminuir a excreção do mesmo pela urina.

2.4 EXCREÇÃO DE NITROGÊNIO E EMISSÃO DE ÓXIDO NITROSO POR RUMINANTES EM PASTEJO

O Brasil possui um rebanho de aproximadamente 195 milhões de ruminantes, sendo cerca de 90% representado por bovinos distribuídos em aproximadamente 159 milhões de hectares (IBGE, 2017). Dessa forma, as excretas dos animais são depositadas diretamente no solo, distribuindo-se desigualmente nas áreas de pastagens.

Entre 70 e 95% do N consumido por ruminantes acaba sendo depositado no pasto, a partir das excretas (OENEMA et al., 2005), sendo esta quantidade relativamente constante nas fezes e com maior variação na urina (ECKARD et al., 2003). No entanto, devido a quantidade de N excretado pelos animais geralmente exceder a necessidade imediata das plantas, o excesso de N pode ser perdido através da lixiviação de nitrato e emissões gasosas, como o N_2O (SAGGAR et al., 2011). Dessa forma, os excrementos animais são uma das principais fontes das emissões de N_2O no setor agrícola (LUO et al., 2014).

A maior parte do N excretado por ruminantes está presente na forma orgânica, devendo este ser convertido para forma inorgânica através da mineralização, e assim ficar disponível para absorção microbiana e vegetal (CAI; CHANG; CHENG, 2017). Porém, o processo de mineralização apresenta diferenças em relação ao tipo de excreta, urina ou fezes, e conseqüente emissão de N_2O .

Mais de 70% do N contido na urina está na forma de ureia (HAYNES E WILLIAMS, 1993), sendo esta rapidamente hidrolisada após a excreção e convertida em amônio (NH_4^+) no solo (SORDI et al., 2014). Entretanto, em relação às fezes, a maioria do N excretado está na forma orgânica (HAYNES E WILLIAMS, 1993), apresentando taxa de mineralização mais

lenta quando comparado ao N de origem urinária (BOLAN et al., 2004). Dessa forma, o aumento de NH_4^+ no solo é mais lento devido ao N das fezes não ser prontamente disponível para hidrólise, como na ureia (SORDI et al., 2014). O NH_4^+ disponível no solo após a mineralização da matéria orgânica pode ser oxidado a NO_3^- através da nitrificação (KLEIN E ECKARD, 2008). Este processo é aeróbico e tem como subproduto o N_2O . Posteriormente, o NO_3^- pode ser reduzido a N_2 pela desnitrificação, processo anaeróbico que apresenta o N_2O como intermediário obrigatório.

O que permite a comparação entre estudos realizados sob diferentes condições agronômicas e ambientais é o fator de emissão, definindo como a porcentagem do N aplicado no solo que é emitido como N_2O (SORDI et al. 2014). Considerando que existem diferenças nas formas de N presentes na urina e fezes, sabe-se que o FE é diferente entre os tipos de excreta. Neste sentido, Oenema et al. (1997) estimaram o fator de emissão para urina entre 0,1 e 3,8%, e entre 0,1 e 0,7% para as fezes.

Como o N urinário é mais suscetível a perdas gasosas quando comparado ao N das fezes, a diminuição da excreção de N na urina pode ser considerada um fator fundamental para reduzir as emissões de N_2O e alcançar uma produção ambientalmente sustentável. Dessa forma, a manipulação da dieta dos ruminantes pode ser considerada como uma importante ferramenta na diminuição do N urinário, e conseqüentemente na emissão de N_2O . Um ótimo equilíbrio entre N e substratos de energia na dieta (DIJKSTRA et al., 2013), ou a suplementação com taninos, podem se constituir em ferramentas que ajudem a reduzir a excreção de N urinário e canalizar parte deste N para as fezes (MAKKAR, 2003).

2.5 FATORES QUE INFLUENCIAM A EMISSÃO DE ÓXIDO NITROSO PROVENIENTE DA EMISSÃO DIRETA DO SOLO

Nitrificação e desnitrificação são considerados os principais processos microbianos no solo responsáveis pela produção de N_2O . Embora a nitrificação é um pré-requisito essencial para a desnitrificação, devido a conversão do N aplicado no solo (urina ou fertilizantes) em NO_3^- , sugere-se que a desnitrificação é a principal fonte de N_2O , visto que as medições de campo indicam que altas taxas de emissão geralmente coincidem com as condições do solo que levam à aumento do processo de desnitrificação (KLEIN e ECKARD, 2008).

Vários fatores climáticos e de solo afetam os processos de nitrificação e desnitrificação na produção de N_2O , como, temperatura, aeração, umidade e N mineral, sendo

a desnitrificação favorecida à medida que aumentam a umidade, a temperatura e a disponibilidade de NO_3^- no solo em condições limitantes de oxigênio (BOLAN et al., 2004).

Um dos principais fatores que afetam a desnitrificação é a disponibilidade de oxigênio no solo. Em condições anaeróbicas, o NO_3^- é utilizado na respiração dos microrganismos, resultando na produção de N_2O como intermediário obrigatório nesse processo (BOLAN et al., 2004). No entanto, a restrição de oxigênio no solo é favorecida com maior compactação devido a menor aeração e através da umidade, podendo ser associada a eventos de precipitação. Segundo Krol et al. (2016) a umidade é influenciada pela textura, drenagem e teor de argila do solo, visto que solos com maior teor de argila respondem mais lentamente à precipitação e a umidade permanece mais tempo. Em solos de textura fina e bem drenados a umidade aumenta e diminui rapidamente.

Como indicativo da anaerobicidade do solo pode-se considerar a quantidade de poros preenchidos por água (PPA). Dessa forma, maiores valores de PPA restringem a concentração de oxigênio no solo, resultando em condições anaeróbicas que estimulam o processo de desnitrificação (KROL et al., 2016). De acordo com Dijkstra et al. (2013), as emissões são relativamente maiores quando o espaço de PPA no solo varia de 60% a 80%.

A adição de NO_3^- no solo também é considerado como um fator que aumenta a taxa de desnitrificação, e além disso, a maior disponibilidade de NO_3^- é uma condição que pode propiciar a emissão de N_2O , visto que influencia a relação $\text{N}_2\text{O}:\text{N}_2$ nos produtos gasosos da desnitrificação (BOLAN et al., 2004). De acordo com Arah e Smith (1990), em situações de baixa concentração de NO_3^- o N_2 é o produto predominante no processo de desnitrificação, e em altas concentrações de NO_3^- o N_2O geralmente predomina.

Além de todos os fatores já citados, a temperatura do solo também influencia diretamente no processo de desnitrificação, sendo a emissão de N_2O relativamente menor quando a temperatura do solo é baixa (DIJKSTRA et al., 2013). De outra forma, emissão é maior com o aumento da temperatura devido a maior atividade microbiana, até o máximo de $30,8^\circ\text{C}$ (BOLAN et al., 2004).

Luo et al. (2014) avaliaram a emissão de N_2O a partir das excretas de ovinos alimentados com diferentes dietas e relacionaram os maiores fluxos de N_2O com eventos de precipitação e de maior espaço de PPA. Além disso, os autores relataram vários picos de emissão durante períodos de alta concentração de nitrato. Em estudo de Krol et al. (2016), com objetivo de avaliar o efeito do tipo de solo na emissão de N_2O e FE a partir das excretas de bovinos e urina sintética depositadas no solo, os autores associaram as maiores emissões

de N_2O e de FE às condições de alta precipitação e umidade em solo imperfeitamente drenado, e menor FE para solo bem drenado.

Visto isso, aumento na disponibilidade de NO_3^- disponível no solo, principalmente a partir da urina, e na umidade do solo após a deposição da urina dos ruminantes diretamente nas pastagens, favorece maior taxa de desnitrificação e propicia o pico de emissão do N_2O nos primeiros dias após a aplicação das excretas. Dessa forma, reduzir a quantidade de NO_3^- no solo, através da diminuição da excreção de N urinário, pode ser considerada como uma ferramenta para mitigar a emissão de N_2O no setor da pecuária.

3 HIPÓTESES

A suplementação com grão de milho moído diminui a excreção de N e minimiza a emissão de N_2O , devido a melhor relação energia \times proteína na dieta;

A suplementação com o extrato tanífero possibilita a transferência do N da urina para as fezes e conseqüente redução na emissão de N_2O .

4 OBJETIVOS

Avaliar o ajuste de dietas visando mitigar a emissão de N₂O a partir da relação energia × proteína e da suplementação com extrato tanífero, além de determinar o fator de emissão nas condições estudadas.

5 MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo foi composto por duas etapas, a primeira com utilização de ovinos alojados em gaiolas metabólicas para coleta de fezes e urina, com o intuito de determinar a excreção de N nos animais recebendo diferentes dietas, e a segunda em que as excretas foram aplicadas no solo para avaliação da emissão de N₂O. Os trabalhos foram desenvolvidos nas instalações da Universidade do Estado de Santa Catarina (Udesc) - Centro de Ciências Agroveterinárias, Lages, SC, Brasil (27 ° 48 '57 "S; 50 ° 19' 33" O), no período de outubro de 2017 a maio de 2018. Todos os procedimentos realizados com os animais foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (Ceua) da Universidade do Estado de Santa Catarina (protocolo nº 6292180917).

5.1 EXPERIMENTO COM ANIMAIS

5.1.1 Animais, delineamento experimental e tratamentos

Seis ovinos da raça Lacaune, machos, castrados, com peso inicial médio de 27 ± 3 kg, foram distribuídos num delineamento experimental em duplo Quadrado Latino 3×3 , com três períodos de 21 dias (14 de adaptação e sete de coletas). Durante os primeiros sete dias do período de adaptação os animais foram agrupados por tratamento e alojados em baias coletivas. Após, foram alocados em gaiolas metabólicas individuais e equipados com coletores de urina.

Os tratamentos experimentais (dietas) foram pré-secado de azevém (*Lolium multiflorum* Lam.) à vontade + 60 g de farelo de soja (S), pré-secado de azevém + 60 g de farelo de soja + 140 g de grão de milho moído (SM) e pré-secado de azevém + 60 g farelo de soja + 140 g de grão de milho moído + 40 g/kg de ração concentrada de extrato tanífero de *Acacia mearnsii*. A ingestão do extrato tanífero foi equivalente a 10 g/kg MS ingerida. A alimentação foi ministrada duas vezes ao dia (9:00 e 17:00 horas) em partes iguais, permitindo 20 % de sobras. Os animais receberam água à vontade e suplementação vitamínico/mineral na razão de 12 g/dia de mistura comercial para ovinos (Ovinofós, Tortuga, Mairinque, Brasil). A quantidade de alimento concentrado a ser fornecido foi calculada para que energia e proteína fossem o suficiente para um ganho médio diário de 300 g (INRA, 2007). A composição bromatológica e o valor nutritivo dos alimentos são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 — Composição química e valor nutritivo do pré-secado de azevém (*Lolium multiflorum*) e dos suplementos utilizados em diferentes tratamentos experimentais oferecidos para cordeiros.

Item	Pré-secado	Tratamentos ¹		
		S	SM	SMT
MS (g/kg)	213	894	877	884
<i>Composição química (g/kg MS)</i>				
MO	912	797	912	922
PB	132	448	217	202
FDN	594	128	189	187
FDA	365	70,9	50,5	52,6
<i>Valor nutritivo</i>				
EM ² , Mcal/kg MS	2,29	2,48	2,70	2,70
PDIN ³ , g/kg MS	85	319	144	144
PDIE ³⁴ , g/kg MS	69	202	115	115

¹S = farelo de soja, SM = farelo de soja + grão de milho moído, SMT = farelo de soja + grão de milho moído + extrato tanífero; ²EM: energia metabolizável estimada de acordo com o INRA (2007). ³PDIN: proteína verdadeira digestível no intestino quando nitrogênio é limitante para a síntese microbiana no rúmen (INRA,2007); ⁴PDIE: proteína verdadeira digestível no intestino quando a energia é limitante para a síntese microbiana no rúmen (INRA, 2007).

Fonte: Elaborada pela autora, 2018.

5.1.2 Amostragem

O consumo de pré-secado foi aferido pela diferença entre o ofertado e as sobras no período de 24 horas. Amostras de 100 g/dia, do alimento oferecido e das sobras de cada animal, foram coletadas durante os sete dias de amostragem em cada um dos períodos. Ao final de cada período, foram constituídas uma amostra composta por alimento por período e uma amostra composta das sobras por animal por período. Nesse mesmo período, fez-se a aferição da produção individual total de fezes, e amostras de 50 g/dia foram coletadas para determinação do N e cálculos de digestibilidade aparente. As amostras da dieta oferecida, das sobras e das fezes foram secas em estufa com ventilação forçada a 60°C durante 72 horas moídas em peneira de 1,0 mm e armazenadas para análises posteriores.

Amostras de urina, para determinação da quantidade excretada de N, foram coletadas nos quatro primeiros dias de cada período de coleta. A urina foi coletada através de uma bolsa e canalizada para frascos em que o volume total diário foi aferido. O recipiente continha 150 ml de solução de ácido sulfúrico (H₂SO₄) a 20 %, garantindo que o pH estivesse abaixo de 3 (SPEK et al., 2013) para evitar a perda de N-NH₃. Diariamente, 1% do volume total de cada animal foi coletado e diluído em 100 ml com água destilada, constituindo uma amostra

composta por animal por período, a qual foi armazenada a temperatura de -20 °C para análises posteriores.

Para amostragem das excretas que foram aplicadas no campo visando a realização da segunda parte do trabalho, foram coletadas amostras equivalentes a 15 % da excreção diária, durante sete dias para fezes e nos últimos três dias de cada período de coleta para urina. A urina foi canalizada para recipientes armazenados em caixas de isopor com gelo para permitir uma temperatura abaixo de 3 °C e evitar a perda de N. As amostras foram compostas por tratamento, considerando os três períodos, estocadas em baldes plásticos e congeladas a -20 °C (SANCHEZ-MARTÍN et al., 2017) até a utilização na segunda etapa do experimento.

5.1.3 Análises laboratoriais e cálculos

Para fezes e alimento foram determinadas matéria seca, matéria mineral (MM), N, fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA). Para amostras de urina, compostas também por período e animal, foi determinado N.

Nas amostras de alimento oferecido, sobras e fezes os teores de MS foram determinados por secagem em estufa a 105 °C por 24 horas. O conteúdo de cinzas foi quantificado por combustão em forno mufla a 550 °C por 4 horas e o teor de matéria orgânica pela diferença de massa. Os teores de FDN foram quantificados de acordo com Mertens et al., (2002), exceto que as amostras foram pesadas em sacos filtrantes e tratadas com detergente neutro em um equipamento ANKOM (Tecnologia ANKOM, Macedon, NY, EUA), sem a utilização de sulfito de sódio e com enzima alfa-amilase termo-estável Termamyl 120L®. Os teores de FDA foram determinados de acordo com o método 973.18 do AOAC (1997). Nas amostras do alimento oferecido, sobras, fezes e urina o teor de N total foi determinado pelo método de combustão de Dumas 968.06 (AOAC, 1990) com utilização do aparelho Leco modelo FP 528 (LC, Leco Corporation, Saint Joseph, EUA). O resíduo obtido a partir da análise de FDN das fezes foi utilizado para determinar o teor de N insolúvel em detergente neutro (NIDN), utilizando os mesmos procedimentos descritos para a determinação de N.

A digestibilidade aparente da MS, MO, N e FDN foi calculada da seguinte forma: $[\text{consumo (g/dia)} - \text{excreção nas fezes (g/dia)}] / \text{consumo (g/dia)}$. A digestibilidade verdadeira do N foi calculada pela fórmula: $[\text{consumo N (g/dia)} - \text{excreção NIDN (g/dia)}] / \text{consumo N (g/dia)}$.

Os níveis na dieta de proteína verdadeira digestível no intestino delgado quando o nitrogênio degradável no rúmen é limitante (PDIN) e proteína verdadeira absorvível no

intestino delgado quando a energia fermentável no rúmen é limitante (PDIE) foram calculados a partir da composição química das amostras das dietas conforme proposto pelo Institut National de la Recherche Agronomique (INRA, 2007).

5.2 EXPERIMENTO A CAMPO

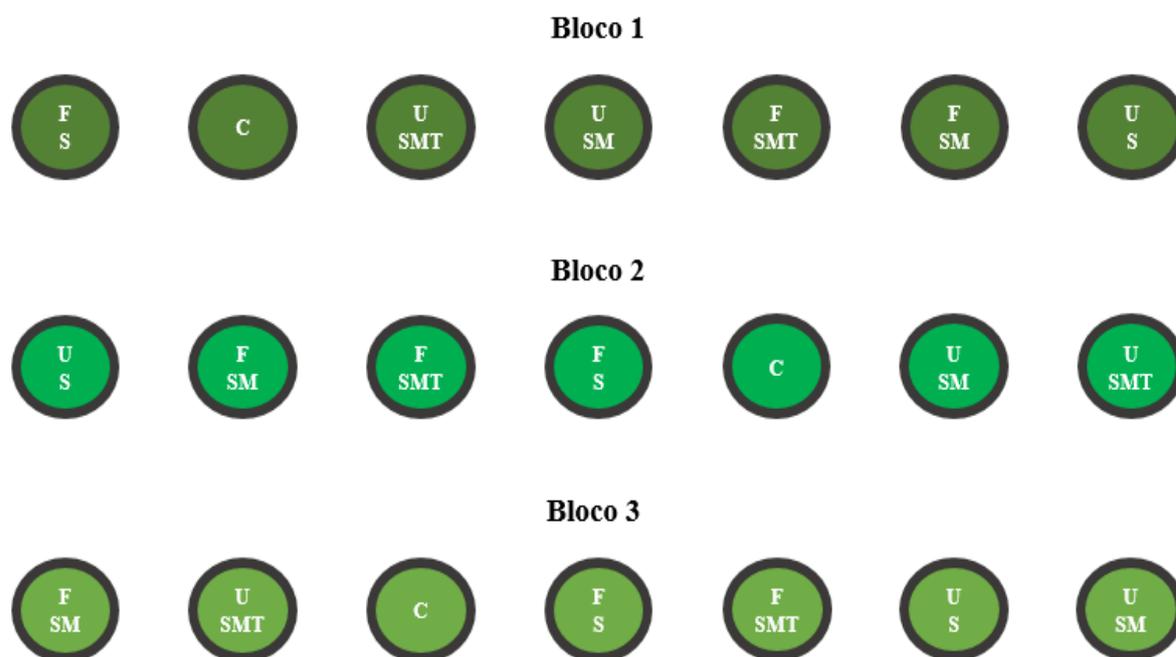
5.2.1 Descrição local, delineamento experimental e tratamentos

A segunda etapa deste estudo foi conduzida de 24 de janeiro a três de maio de 2018. O clima da região é mesotérmico úmido com verões amenos, Cfb de acordo com a classificação de Köppen. O solo da área experimental é um Cambissolo Húmico Alumínico Léptico derivado de siltitos e argilitos (EMBRAPA, 2006). As propriedades do solo (0-10cm) em que o experimento foi realizado apresentou pH-H₂O = 6,0; MO = 4,8 %; densidade: 1,18 g/cm³; porosidade total: 0,56 m³/m³; argila = 49 % silte = 44 %; areia = 7%.

As principais espécies de gramíneas estabelecidas na área experimental eram capim quicuío (*Pennisetum clandestinum*) e trevo branco (*Trifolium repens L.*), as quais eram rebaixadas em 50 % da altura quando atingiam altura média de 20 cm. A área experimental ficou fechada três meses antes do início até o término das coletas, para evitar influências externas como a deposição de excretas de animais e a aplicação de fertilizantes nas pastagens.

O delineamento experimental foi em blocos ao acaso constituído de três blocos com sete bases metálicas e circulares com 32 cm de diâmetro interno (área = 0,08m²) em cada bloco. A distância entre blocos foi de 5 metros (KLEIN et al., 2003; BARNEZE et al., 2014) e entre bases de 2,5 metros (SORDI et al., 2014). Dentro dos blocos, cada base foi designada para um dos seguintes tratamentos experimentais: sem aplicação de excretas (controle) ou com aplicação de excretas (urina ou fezes) dos tratamentos S, SM ou SMT, as quais foram coletadas na primeira etapa do estudo (Figura 1). Antes da aplicação no solo as amostras armazenadas por tratamento, foram descongeladas e homogeneizadas (SANCHEZ-MARTÍN, 2017). Foram aplicados 140 ml de urina ou 100 g de fezes nas respectivas bases. Estas quantidades foram definidas por serem consideradas como a média de cada excreção para fezes e urina de ovinos em pastejo (HAYNES E WILLIAMS, 1993). Uma alíquota das excretas de cada um dos tratamentos foi coletada para determinação do teor de N das amostras que foram aplicadas ao solo. Estas porções geraram uma taxa de aplicação para os tratamentos S, SM e SMT de urina e fezes de aproximadamente 64, 64 e 54, e 141, 149 e 162 kg de N/ha, respectivamente.

Figura 1 — Delineamento do experimento a campo em blocos ao acaso constituído de três blocos com sete bases metálicas e circulares, com seus respectivos tratamentos de fezes (F), urina (U) e controle (C).



Fonte: Elaborada pela autora, 2018.

5.2.2 Emissão de óxido nitroso e fator de emissão

Para estimativa da emissão de N_2O , amostras de ar foram coletadas através da técnica de câmaras estáticas fechadas (MOSIER, 1989). As câmaras foram confeccionadas a partir de baldes poliuretano com volume de 33,8 L (33,7 cm de diâmetro e 38 cm de altura) envoltos por uma manta metálica isolante para evitar o aquecimento interno. Além disso, as câmaras foram equipadas com ventiladores internos (para homogeneização do ar interno), válvula de saída (para a coleta das amostras de ar), termômetro tipo sonda (para verificação da temperatura do ar interno) e borracha na borda para permitir vedação do conjunto base + câmara no início de cada evento de amostragem. As bases foram fixadas ao solo a uma profundidade de 5 cm e permaneceram no local durante todo o período experimental. As coletas iniciavam às 7:30h, sendo coletadas amostras de um bloco de cada vez e sempre na mesma ordem (ALVES et al., 2012; LAVILLE et al., 2011). As mensurações foram realizadas nos dias 0 (zero, sem aplicação das excretas), 1, 3, 5, 7, 9, 13, 17, 21, 27, 31, 36, 41, 48, 55, 62, 69, 76, 83, 90 e 99 após a deposição de urina e fezes no solo, totalizando 20 coletas. As amostras de ar foram coletadas no tempo 0, 15 e 30 minutos após o fechamento da câmara, com seringas de polipropileno de 10 ml e mantidas em caixa térmica com gelo até finalizar a amostragem. Posteriormente, as amostras foram levadas ao laboratório e

transferidas para frascos pré-evacuados, onde a determinação das concentrações de N₂O foram efetuadas por cromatografia gasosa utilizando um equipamento Shimadzu CG 2014 modelo “Greenhouse”, com injetor a 250 °C, coluna a 70 °C, N₂ como gás transportador (30 mL min⁻¹) e detector de captura de elétrons em 325 °C.

Os fluxos horários de N-N₂O (µg/m² /h) foram calculados de acordo com o aumento na concentração de gás dentro da câmara ao longo do tempo (KLEIN et al., 2014; LUO et al., 2018):

$$f = \delta Gas / \delta t \times M / V_m \times V / A$$

onde: δGas representa aumento na concentração de gás dentro da câmara ao longo do tempo, (µL/L), δt tempo de fechamento da câmara (horas), M é o peso molar de N em N₂O, V_m é o volume molar de gás (L/mol) na temperatura do momento da amostragem, V o volume da câmara (m³), e A é a área do solo (m²) coberta pela câmara. Como as emissões horárias foram assumidas como representando as emissões médias diárias, as emissões acumulativas totais de cada tratamento foram estimadas interpolando linearmente as emissões diárias entre datas de amostragem de N₂O (KLEIN et al., 2014).

O fator de emissão, que representa a % do N aplicado nas excretas (fezes ou urina) emitido na forma de N₂O, foi calculado usando a seguinte equação (KROL et al., 2016):

$$FE = (N_2O(\text{tratamento}) - N_2O(\text{controle})) / (N \text{ aplicado}) \times 100$$

onde, N₂O (tratamento) = a emissão acumulada de cada um dos tratamentos com excretas (fezes ou urina), N₂O (controle) = emissão acumulada do tratamento controle e N aplicado = a quantidade de N depositado no solo para cada um dos tratamentos.

5.2.3 Clima e solo

Dados de temperatura do ar e precipitação durante o período experimental foram obtidos junto ao Instituto Nacional de Meteorologia (INMET). Para cada dia de amostragem, a temperatura do solo foi aferida com um termômetro digital próximo a cada um dos blocos e amostras de solo foram coletadas com trado em áreas determinadas próximas a cada bloco para quantificar a umidade gravimétrica (105°C por 24 horas). O espaço de poros preenchidos por água (PPA) foi calculado dividindo-se a umidade volumétrica pela porosidade total do

solo. A densidade de partícula do solo foi assumida como 2,65 mg/m³ e a densidade do solo determinada pelo método do anel volumétrico (EMBRAPA, 2011). A umidade volumétrica foi estimada pela multiplicação da umidade gravimétrica pela densidade do solo (LUO et al., 2018).

5.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para as variáveis relacionadas aos animais, os dados foram submetidos a análise de variância utilizando o procedimento Mixed do programa SAS (versão 9.3, Instituto SAS, Cary, NC) conforme o seguinte modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + P_j + T_k + e_{ijk}$$

onde, Y_{ijk} é a variável dependente, μ é a média geral, A_i é o efeito aleatório do animal, P_j é o efeito aleatório do período T_k é o efeito fixo de tratamento e e_{ijk} erro residual.

Para os dados de fluxo de emissão de N₂O com medidas repetidas no tempo, o modelo considerou o efeito fixo de tratamento, efeito aleatório de bloco e interação de tratamento e dia. A escolha da melhor matriz de covariância foi realizada com base no critério de informação de Akaike (AKAIKE, 1974), sendo as matrizes componentes de variância e autoregressivo heterogêneo escolhidas para fezes e urina, respectivamente. Os dados foram submetidos a análise de variância utilizando o procedimento Mixed do programa SAS (versão 9.3, Instituto SAS, Cary, NC). Para melhor entendimento da relação entre variáveis dependentes, uma análise de componentes principais foi realizada usando dados de fluxos N₂O, temperatura do solo, e espaço de poros preenchidos por água, utilizando o *software* MINITAB versão 14.

Para análise dos dados de emissão acumulada e do fator de emissão do N₂O foi utilizado o procedimento GLM do programa SAS (versão 9.3, Instituto SAS, Cary, NC), a partir do modelo:

$$Y_{ij} = \mu + B_i + T_k + e_{ij}$$

onde, Y_{ijk} é a variável dependente, μ é a média geral, B_i é o efeito aleatório de bloco, T_k é o efeito fixo de tratamento e e_{ij} é o erro residual.

Valores de probabilidade menores que 0,05 foram considerados diferentes significativamente e valores entre 0,05 e 0,10 foram considerados como tendência.

6 RESULTADOS

Para o tratamento em que os cordeiros receberam apenas farelo de soja no alimento concentrado, o consumo de MS do pré-secado tendeu a ser maior (+45 g/dia; $P < 0,06$) mas os consumos totais de MS e MO diminuiram ($P < 0,01$) nos animais do tratamento S em comparação aos dos tratamentos SM e SMT. (Tabela 2). O consumo de PDIE foi maior ($P < 0,01$) para os tratamentos com adição de grão de milho moído na dieta, e consequente menor ($P < 0,001$) balanço PDR para os animais dos tratamentos SM e SMT se comparados ao tratamento S. As digestibilidades aparentes da MS, MO e FDN não diferiram entre os tratamentos, apresentando médias de 0,66; 0,68; e 0,64, respectivamente.

Tabela 2 — Consumo e digestibilidade aparente da matéria seca, matéria orgânica e fibra em detergente neutro, consumo de PDIN e PDIE, e balanço PDR em cordeiros alimentados com pré-secado de azévem (*Lolium multiflorum*) recebendo diferentes tipos de suplementação.

Item	Tratamentos ¹			EPM	Valor de P
	S	SM	SMT		
<i>Consumo</i>					
Matéria seca					
Pré-secado (g/dia)	592 ^a	549 ^b	545 ^b	12,3	0,052
Concentrado (g/dia)	64,4 ^c	186 ^b	194 ^a	0,07	<0,001
Total (g/dia)	656 ^b	735 ^a	739 ^a	12,3	0,002
Total (g/kg PV)	20,4 ^b	24,2 ^a	23,6 ^a	0,46	0,001
Matéria orgânica (g/dia)	590 ^b	670 ^a	677 ^a	11,1	0,001
Matéria orgânica (g/kg PV ^{0,75})	43,8 ^b	51,6 ^a	51,1 ^a	0,92	<0,001
FDN ² (g/dia)	356	358	357	7,6	0,974
FDN (g/ kg PV)	11,1	11,8	11,4	0,27	0,238
PDIN ³ (g/dia)	70,8	73,4	74,2	1,05	0,112
PDIE ⁴ (g/dia)	53,8 ^b	59,2 ^a	59,9 ^a	0,85	0,002
Balanço PDR ⁵ (g/dia)	17,0 ^a	14,2 ^b	14,3 ^b	0,20	<0,001
<i>Digestibilidade aparente</i>					
Matéria Seca	0,650	0,676	0,660	0,0103	0,258
Matéria Orgânica	0,673	0,693	0,676	0,0097	0,333
FDN	0,651	0,648	0,634	0,0106	0,495

¹Tratamentos: S: pré-secado à vontade + 60 g/dia de farelo de soja; SM: pré-secado à vontade + 60 g/dia de farelo de soja + 140 g/dia de grão de milho moído; SMT: pré-secado à vontade + 60 g/dia de farelo de soja + 140 g/dia de grão de milho moído + 40g/kg de ração concentrada de extrato tanífero de *Acacia mearnsii*. ² FDN: fibra em detergente neutro. ³PDIN: proteína verdadeira digestível no intestino quando nitrogênio é limitante para a síntese microbiana no rúmen (INRA,2007); ⁴PDIE: proteína verdadeira digestível no intestino quando a energia é limitante para a síntese microbiana no rúmen (INRA, 2007). ⁵Balanço proteína degradável no rúmen = PDIN-PDIE. Fonte: Elaborada pela autora, 2018.

O consumo de N foi similar entre os tratamentos, com média de 18 g/dia (Tabela 3). As digestibilidades aparente e verdadeira do N reduziram ($P \leq 0,01$) nos animais do tratamento SMT em comparação aos tratamentos S e SM, enquanto a excreção fecal de N aumentou em 16% ($P < 0,01$) no tratamento SMT quando comparado aos demais tratamentos. A excreção diária de N na urina, bem como as relações N excretado na urina/N excretado nas fezes e N excretado na urina/ N total excretado reduziram ($P < 0,05$) nos animais recebendo a inclusão do grão de milho moído no suplemento em comparação aos animais do tratamento que recebeu apenas farelo de soja na suplementação. O N retido foi similar entre os tratamentos, com média de 3,31 g/dia e 0,18 g/g N ingerido.

Tabela 3 — Consumo, digestibilidade aparente, digestibilidade verdadeira, excreção e retenção de nitrogênio em cordeiros recebendo diferentes tipos de suplementação.

Item	Tratamentos ¹			EPM	Valor de P
	S	SM	SMT		
Consumo (g/dia)	17,6	18,4	18,1	0,28	0,187
Digestibilidade aparente	0,639 ^a	0,618 ^a	0,570 ^b	0,0120	0,010
Digestibilidade verdadeira	0,891 ^a	0,888 ^a	0,868 ^b	0,0038	0,004
<i>Excreção (g/dia)</i>					
Fezes	6,41 ^b	7,02 ^b	7,79 ^a	0,209	0,005
Urina	8,31 ^a	7,30 ^b	7,38 ^b	0,235	0,029
Total	14,7	14,3	15,2	0,37	0,314
Urina/fezes	1,33 ^a	1,05 ^b	0,949 ^b	0,0391	<0,001
Urina/total	0,571 ^a	0,505 ^b	0,485 ^b	0,0092	<0,001
<i>Excreção (g/g N ingerido)</i>					
Fezes	0,361 ^b	0,382 ^b	0,430 ^a	0,0120	0,010
Urina	0,479 ^a	0,402 ^b	0,406 ^b	0,0161	0,017
N retido (g/dia)	2,89	4,09	2,96	0,545	0,274
N retido (g/g N ingerido)	0,160	0,216	0,164	0,0250	0,270

¹Tratamentos: S: pré-secado à vontade + 60 g/dia de farelo de soja; SM: pré-secado a vontade + 60 g/dia de farelo de soja + 140 g/dia de grão de milho moído; SMT: pré-secado à vontade + 60 g/dia de farelo se soja + 140 g/dia de grão de milho moído + 40g/kg de ração concentrada de extrato tanífero de *Acacia mearnsii* ² N: nitrogênio.

Fonte: Elaborada pela autora, 2018.

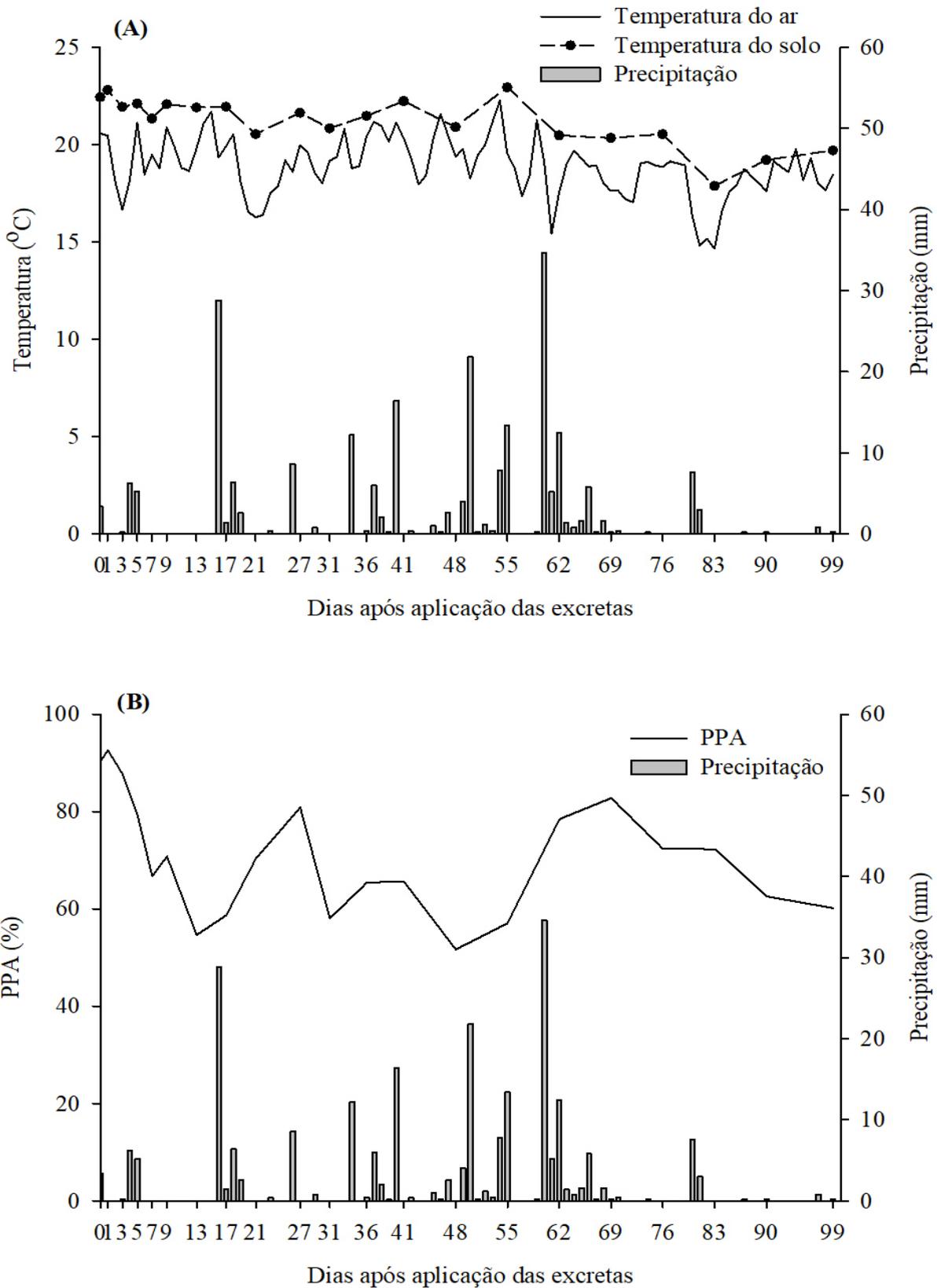
A temperatura do ar durante o período experimental variou de 14,6 a 22,3 °C com média de 18,9 °C, enquanto a precipitação acumulada foi de 230,8 mm. As médias da temperatura do solo e poros preenchidos por água foram 21,2 °C e 70,4%, respectivamente (Figura 1).

O fluxo de emissão de N₂O para fezes não apresentou interação entre tratamento e dia, resultando em emissões semelhantes entre os tratamentos de fezes os quais também não diferiram do tratamento controle (sem adição de excretas) em todos os dias de coletas (Figura 2A). Porém, comparando-se as emissões originadas da urina dos animais que receberam os diferentes tratamentos, o fluxo de emissão foi superior naquela dos animais suplementados apenas com farelo de soja, em comparação aos demais tratamentos, nos dias 3, 5 e 7 após aplicação das excretas (Figura 2B). O pico de emissão dos tratamentos de urina foi no dia 5, com valores de 6034, 2267 e 3432 µg N-N₂O/m²/h para urina dos animais dos tratamentos S, SM e SMT, respectivamente. Em geral, os maiores fluxos de N₂O ocorreram após ocorrência de precipitação.

A emissão acumulada de N₂O a partir das fezes aplicadas ao solo não apresentou diferença entre os tratamentos, os quais também não diferiram do tratamento controle (sem aplicação de excretas). Porém, em relação a urina, os animais suplementados apenas com farelo de soja apresentaram maior ($P < 0,01$) emissão quando comparados aos tratamentos SM e controle que não diferiram entre si, enquanto os animais do tratamento SMT apresentaram valor intermediário (Tabela 4). O fator de emissão para fezes foi similar entre os tratamentos, e para urina apresentou tendência de redução ($P < 0,10$) de 61 % para o tratamento com adição de grão de milho moído na suplementação se comparado ao tratamento com apenas farelo de soja. Os valores médios do fator de emissão para fezes e urina foram 0,18 e 4%, respectivamente.

Na análise de componentes principais o objetivo foi de verificar se o fluxo de N₂O emitido poderia estar associado a diferentes condições no solo. Foi gerado um número de três componentes. Considerando que *eigenvalues* menores que um podem ser descartados (JOLLIFFE, 1986), somente o primeiro componente principal foi explorado. O componente citado explicou aproximadamente 50% da variação nos dados, indicando que o fluxo de N₂O apresentou uma associação positiva com as variáveis poros preenchidos por água e temperatura do solo (Tabela 5).

Figura 2 — Dados de temperatura do ar, temperatura do solo e precipitação (A), precipitação e % de poros preenchidos por água (PPA) (B), durante o período experimental.



Fonte: Elaborada pela autora, 2018.

Figura 3 — Fluxo de emissão do óxido nitroso, após a aplicação das excretas, nos diferentes tratamentos: controle (sem aplicação no solo) e a partir de fezes (A) e urina (B) de cordeiros alimentados com pré-secado de azévem (*Lolium multiflorum*) e suplementação com farelo de soja (S) ou farelo de soja e grão de milho moído (SM) ou farelo de soja, grão de milho moído e tanino (SMT).

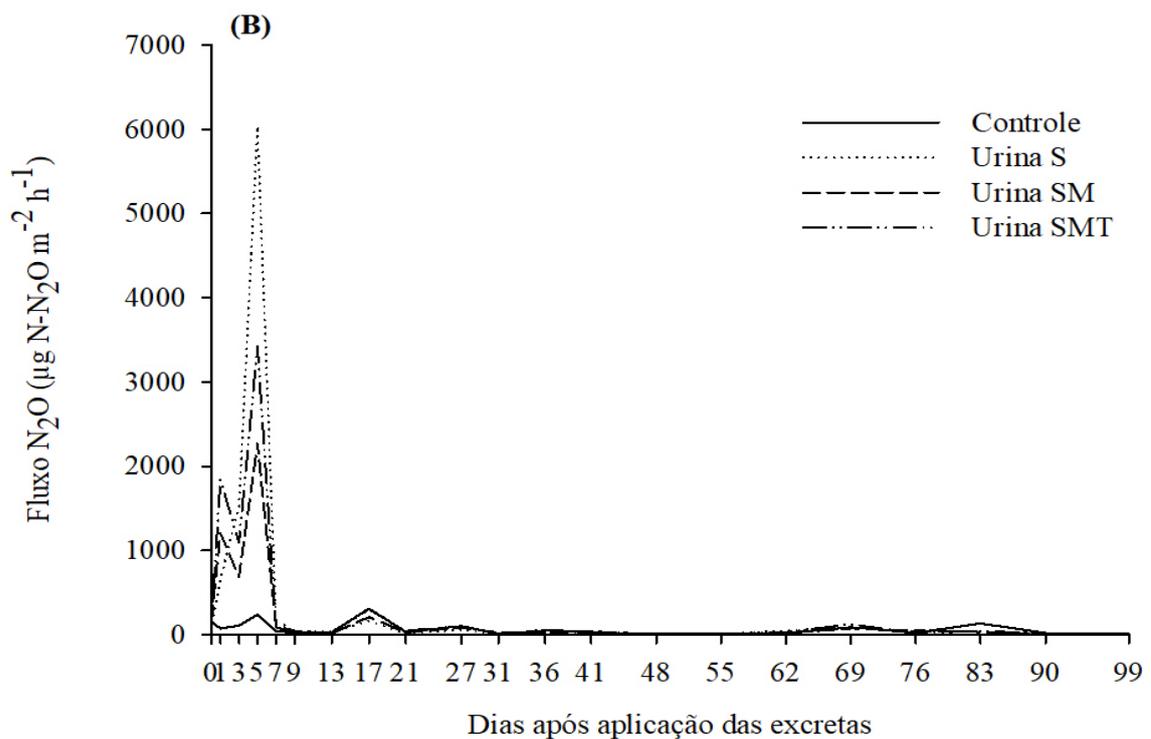
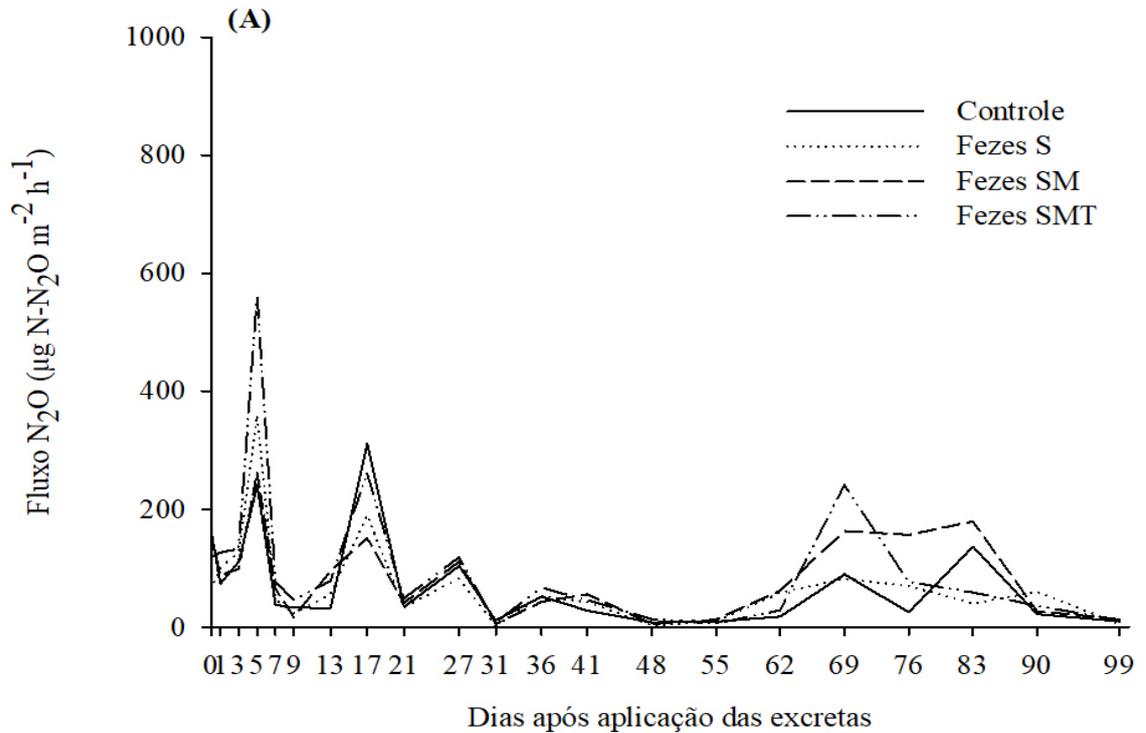


Tabela 4 — Emissão acumulada e fator de emissão do óxido nitroso nos diferentes tratamentos, controle (sem aplicação de excretas) e a partir de fezes e urina de cordeiros alimentados com pré-secado de azévem (*Lolium multiflorum*) e suplementação com farelo de soja (S) ou farelo de soja e grão de milho moído (SM) ou farelo de soja, grão de milho moído e tanino (SMT).

Item	Tratamentos ¹				Root MSE	Valor de P
	C	S	SM	SMT		
Emissão N ₂ O (kg N-N ₂ O/ha)						
Fezes	1,44	1,45	1,78	1,94	0,547	0,634
Urina	1,44 ^c	4,78 ^a	2,78 ^{bc}	3,97 ^{ab}	0,688	0,005
Fator de emissão (%)						
Fezes	-	0,010	0,227	0,307	0,3374	0,582
Urina	-	5,21	2,07	4,68	1,341	0,089

¹ Tratamentos: C: sem aplicação de excretas; S: pré-secado + farelo de soja; SM: pré-secado + farelo de soja + grão de milho moído; SMT: pré-secado + farelo se soja + grão de milho moído + tanino. ² N: nitrogênio.

Fonte: Elaborada pela autora, 2018.

Tabela 5 — Análise de componentes principais: *eigenvalue*, proporção da variância explicada por cada componente, acumulada e correlações entre os componentes principais (CP) e as variáveis originais.

<i>Eigenvalue</i>	1,38	0,845	0,780
Proporção	0,458	0,282	0,260
Acumulado	0,458	0,740	1,00
Variável	CP ₁	CP ₂	CP ₃
Fluxo N ₂ O	-0.600	0,294	0,744
Poros preenchidos por água	-0.588	0,469	-0.659
Temperatura do solo	-0.542	-0.833	-0.108

Fonte: Elaborada pela autora, 2018.

7 DISCUSSÃO

7.1 EFEITO DA RELAÇÃO ENERGIA \times PROTEÍNA SOBRE A EXCREÇÃO NITROGENADA

A diminuição de 12% na excreção de N urinário dos animais que receberam a suplementação com grão de milho moído pode ser atribuída, ao menos parcialmente, à melhor relação energia proteína da dieta. Hristov et al. (2005) investigaram os efeitos da adição de CHO com diferentes taxas de degradação a uma dieta controle deficiente em energia e relataram que vacas em lactação que receberam dieta com dextrose de milho ou amido de milho aumentaram a captura de amônia no rúmen, sendo este resultado relacionado à quantidade de energia fermentável fornecida no rúmen com CHO. Dessa forma, no presente estudo, o milho adicionado na alimentação dos ovinos como fonte de CHO pode ter melhorado a utilização da NH_3 ruminal, resultando em menos N suscetível de ser excretado na urina. Estes resultados também vão ao encontro do observado no trabalho de Jardstedt et al. (2017), onde os autores observaram que a razão para a diferença na quantidade de N excretado na urina de vacas prenhes da raça Hereford, consumindo a mesma quantidade de N, foi o consumo de matéria orgânica digestível (MOD). Os autores relataram diminuição de 28% no N urinário para o tratamento que os animais consumiram 58% a mais de MOD. Luo et al. (2014) também relacionaram o fornecimento de CHO fermentável a reduções na excreção de N na urina, uma vez que menor energia disponível para a incorporação de N na proteína microbiana resulta em concentrações ruminais de N além da capacidade de captura pelos microrganismos, sendo este excesso excretado na urina. Portanto, a inclusão do grão de milho moído na dieta dos cordeiros como fornecimento de CHO fermentável neste experimento, pode ter reduzido a concentração de NH_3 ruminal e consequente perda de N urinário.

A hipótese da menor concentração de amônia livre ruminal pode ser confirmada através de simulações a partir dos resultados encontrados neste trabalho de acordo com o sistema francês, desenvolvido pelo Institut National de la Recherche Agronomique (INRA, 2018), que tem como unidade básica a proteína digestível no intestino (PDI). Como uma das maneiras de reduzir as perdas de N consistem em equilibrar o nível de N degradável no rúmen, com o suprimento de energia disponível para a síntese de proteína microbiana (COLIN-SCHOELLEN; JURJANZ; LAURENT, 2000), de acordo com o INRA uma dieta atinge o equilíbrio ruminal entre energia e proteína degradáveis quando a proteína verdadeira

digestível no intestino delgado estimada pela disponibilidade de energia e a proteína verdadeira digestível no intestino delgado estimada pela disponibilidade de N são fornecidos em quantidades iguais, o que significa que as exigências de energia e N ruminal foram atendidas na mesma proporção (TEDESCHI et al., 2015). No entanto, quanto maior é a concentração de PDIN em relação à PDIE, maior é a quantidade de N que será degradado no rúmen e maior a concentração de NH_3 ruminal. Sendo assim, a maior diferença entre PDIN e PDIE encontrada no tratamento com adição somente de farelo de soja na dieta dos animais pode ter resultado em maior concentração de NH_3 no rúmen, e conseqüente aumento na excreção de N na urina se comparado ao tratamento com inclusão de grão de milho moído. Esses resultados estão de acordo com o trabalho de Colin-schoellen, Jurjanz e Laurent (2000) que estudaram o balanço entre o N degradável e a disponibilidade de energia no rúmen em vacas leiteiras, através da diferença entre PDIN e PDIE e concluíram que um déficit de PDIN degradável no rúmen causou uma diminuição considerável na perda de N na urina. Portanto, a redução da diferença (PDIN-PDIE) indica que o fornecimento de grão de milho moído foi responsável por menor excreção de N na urina devido a diminuição na concentração de NH_3 ruminal.

7.2 EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE TANINO SOBRE A EXCREÇÃO NITROGENADA

A maior excreção de N nas fezes dos animais no tratamento com adição de extrato tanífero de *Acacia mearnsii* na dieta pode ser atribuída a menor digestibilidade do N neste tratamento. De acordo com Frutos et al. (2004), a evidência mais clara da redução da digestibilidade da proteína a partir da suplementação com taninos é o aumento da excreção fecal de N. No entanto, a maior excreção de N nas fezes pode ser devido ao aumento em N fecal metabólico (origem endógena), e/ou redução na quantidade de proteína absorvida da alimentação (FRUTOS et al., 2004). No presente estudo a digestibilidade aparente e verdadeira do N apresentaram uma redução de 9 e 2%, respectivamente, quando comparados à média dos demais tratamentos. Dessa forma, a adição de tanino na dieta pode ter aumentado a secreção de proteínas endógenas com conseqüente redução na digestibilidade aparente, sendo consistente com o estudo de Komolong, Barber e Mcneill (2001) que atribuiu o excesso de N fecal a redução da digestibilidade aparente da PB à medida que a ingestão do extrato tanífero de quebracho aumentou, e com o trabalho de Carulla et al. (2005) que observou uma redução de 11% na digestibilidade aparente com adição de tanino extraído da acácia-negra na

dieta de ovinos. Além disso, no presente estudo também ocorreu uma pequena redução da digestibilidade verdadeira do N, o que pode ser atribuído à presença de complexos entre tanino e proteína, à formação de complexos de tanino e enzimas digestivas ou a alterações na absorção intestinal devido à interação dos taninos com a mucosa intestinal (FRUTOS et al., 2004). No entanto, no presente estudo, apesar de se encontrar diferenças significativas na digestibilidade do N, a quantidade de N retido não apresentou efeito significativo. Este resultado vai ao encontro do observado em outros trabalhos com adição de diferentes taninos na dieta de ovinos (KOMOLONG, BARBER E MCNEILL, 2001; CARULLA et al., 2005 e DEAVILLE; GIVENS; MUELLER-HARVEY, 2010), o que reforça a possibilidade de o aumento fecal da excreção nitrogenada ser, ao menos parcialmente, consequência do aumento na excreção fecal de N endógeno.

A ausência de resposta dos taninos em reduzir a excreção de N na urina pode ser explicada, ao menos parcialmente, devido à falta de proteção significativa da proteína pelos taninos. Segundo Makkar (2003), os alimentos ricos em taninos geralmente apresentam sabor adstringente. Dessa forma, a quantidade máxima de tanino que os animais consumiram sem afetar o consumo de alimento concentrado foi de 10 g/kg de MS ingerida. No entanto, Carulla et al. (2005) encontraram redução na excreção de N urinário adicionando 41g de tanino/kg de MS da dieta, e de acordo com Min et al. (2003) o consumo de 2,0 a 4,5% da MS pode reduzir a degradação proteica ruminal e aumentar o fluxo de N proteico para o abomaso. A quantidade de tanino fornecido neste trabalho foi equivalente a 10 g/kg MS, ou seja, inferior aos valores citados nos estudos em que se observou modificação na fermentação ruminal e consequente diminuição de excreção de N urinário.

7.3 EMISSÃO DE ÓXIDO NITROSO A PARTIR DAS EXCRETAS DEPOSITADAS NO SOLO E FATORES QUE A INFLUENCIAM

A emissão acumulada de N_2O a partir da urina depositada no solo foi menor para a urina dos ovinos alimentados com inclusão de grão de milho moído na dieta. As distintas emissões entre os tratamentos de urina podem ser atribuídas às diferenças na composição da urina. Jardstedt et al. (2017) além de observarem uma diminuição na excreção de N na urina também observaram redução de N urinário na forma de ureia devido a maior ingestão de MOD para os animais apresentando o mesmo consumo N. Dessa forma, visto que o N urinário é em grande parte ureia e, pode ser rapidamente nitrificado, a menor emissão de N_2O a partir da urina dos animais que receberam grão de milho moído na dieta pode ser atribuída a

menor concentração de ureia na urina devido ao maior consumo de MOD. No entanto, para reduzir a emissão de N_2O a partir da urina depositada no solo por animais em pastejo, um ótimo equilíbrio entre N e substratos de energia na dieta pode ser considerada como uma importante ferramenta de mitigação.

O aumento nos fluxos de N_2O observados neste estudo foram associados a eventos de precipitação com conseqüente aumento da quantidade de PPA, sendo similar ao trabalho de Krol et al. (2016) que observaram o máximo de emissão de N_2O ao longo do experimento com espaço de PPA entre 70 e 80%. De acordo com Luo et al. (2014) o aumento de PPA do solo cria condições anaeróbias e com altos níveis de N e disponibilidade de carbono no solo devido à deposição das excretas, pode propiciar uma maior oportunidade de produção e emissão de N_2O . Além disso, o fato do solo onde o experimento foi realizado ser considerado de textura argilosa e apresentar restrição a drenagem pode ter favorecido a maior % PPA, resultando em maiores emissões. Estes resultados vão ao encontro do relatado por Krol et al. (2016), os quais avaliaram a emissão originada de excretas de vacas de leite em solos de pastagem de clima temperado na Irlanda e observaram que os fluxos de N_2O foram influenciados pelo teor de argila do solo, visto que a umidade do solo é influenciada pela textura e propriedades de drenagem. Klein et al. (2003) encontraram maiores emissões de N_2O a partir de solos argilosos mal drenados com deposição de urina animal em solos sob pastejo na Nova Zelândia. O mesmo pode ser observado por Rochette et al. (2014) em experimento realizado no leste do Canadá com deposição de excretas de vacas leiteiras no solo. Neste caso, os autores relataram maiores emissões em solo de argila do que no solo franco arenoso, apesar da menor disponibilidade de N, indicando que outros fatores, como o estado de aeração do solo, influenciaram a resposta de produção e emissão de N_2O . Estes resultados corroboram com os observados no presente estudo, o qual apresentou maior fluxo de N_2O com menor taxa de aplicação de N comparado a outros trabalhos brasileiros (LESSA et al., 2014; SORDI et al., 2014).

7.4 FATOR DE EMISSÃO DE ÓXIDO NITROSO A PARTIR DAS EXCRETAS DEPOSITADAS NO SOLO E FATORES QUE A INFLUENCIAM

O FE para urina neste trabalho foi superior ao FE das fezes, o que vai ao encontro dos estudos de Luo et al. (2014) e Krol et al. (2016), os quais avaliaram o FE para excretas de ovinos e de vacas leiteiras, respectivamente. Oenema et al. (1997) estimaram que entre 0,1 e 0,7% do N aplicado nas fezes é emitido para a atmosfera como N_2O , a média de 0,18%

encontrada no estudo atual está na parte inferior desse intervalo. Lessa et al. (2014) encontraram um FE de 0,00% a 0,16% para fezes depositadas no solo de vacas leiteiras mantidas em pastagem no Cerrado brasileiro. No entanto, a fração de N na urina que é liberada como N_2O apresenta maior variação sendo de 1 a mais de 10 % (VAN GROENIGEN et al., 2005). Esse estudo apresentou uma média de FE para urina de 4%, sendo o maior FE de 5,2% para o tratamento com apenas inclusão de farelo de soja no alimento concentrado. De outra forma, a urina dos animais que receberam adição de somente grão de milho moído na dieta apresentaram FE de emissão de aproximadamente 2%, o que representou uma redução de aproximadamente 61% no FE do N_2O . Em um estudo em pastagem subtropical brasileira, Sordi et al. (2014) encontraram um FE médio para urina de vacas leiteiras depositadas no solo de 0,26%, apresentando como explicação para o baixo FE desse estudo a condição de solo livre drenado, que permite um fluxo mais profundo de urina para dentro do solo, bem como uma maior difusão de oxigênio, combinada com temperaturas amenas subtropicais. No entanto, Krol et al. (2016) relataram os FE do solo tratado com urina a partir de vacas leiteiras de 0,30 a 4,81% para a urina, com FE de solos bem drenados significativamente mais baixos do que aqueles em solos imperfeitamente drenados. Os autores associaram os maiores FE a condições de alta pluviosidade e alta umidade do solo, favoráveis à desnitrificação, em um local imperfeitamente drenado. Estes resultados corroboram com os maiores resultados de FE encontrados no presente estudo.

Pode-se dizer, portanto, que variações no tipo de solo indicam que o uso do FE padrão de 2% do IPCC não é apropriado para as condições em que esse estudo foi realizado. Dessa forma, conforme relatado por Krol et al. (2016) e Bell et al. (2015), evidencia-se a necessidade de se adotar FE de N_2O específicos por país e por região, bem como para o tipo de excreta depositada no solo. No entanto, mais estudos são necessários com o objetivo de se fornecer dados adicionais para o estabelecimento de FE específicos.

8 CONCLUSÃO

A melhor relação energia × proteína na dieta por intermédio da inclusão de grão de milho moído, é uma importante ferramenta para reduzir a excreção urinária de N e mitigar a emissão de N₂O em sistemas de produção de ruminantes, enquanto a inclusão de extrato tanífero de *Acacia mearnsii* não se mostrou uma alternativa eficaz.

Os valores de FE encontrados no presente estudo mostram que os valores preconizados pelo IPCC superestimam as emissões para fezes e subestimam as emissões para urina. Dessa forma, são necessários estudos com o objetivo de se adotar FE específicos para países, regiões e diferentes tipos de excretas na elaboração de inventários.

REFERÊNCIAS

AKAIKE, H.. A new look at the statistical model identification. **Ieee Transactions On Automatic Control**, [s.l.], v. 19, n. 6, p.716-723, 1974.

ALVES, B. J.R. et al. Selection of the most suitable sampling time for static chambers for the estimation of daily mean N₂O flux from soils. **Soil Biology And Biochemistry**, [s.l.], v. 46, p.129-135, 2012.

AOAC. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 15th ed, Washington: 1990.

AOAC. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 16th ed. Washington: W. Horwitz, 850 p, 1997.

ARAH, J.R.M.; SMITH, K.A. Factors influencing the fraction of the gaseous products of soil denitrification evolved to the atmosphere as nitrous oxide. In: BOUWMAN, A.F., ed. *Soils and the greenhouse effect*. New York, John Wiley & Sons. p.475-480, 1990.

BACH, A.; CALSAMIGLIA, S.; STERN, M. D. Nitrogen Metabolism in the Rumen. **Journal Of Dairy Science**, [s.l.], v. 88, p.E9-21, 2005.

BARNEZE, A. S. et al. Nitrous oxide emissions from soil due to urine deposition by grazing cattle in Brazil. **Atmospheric Environment**, [s.l.], v. 92, p.394-397, 2014.

BELL, M. J. et al. Nitrous oxide emissions from cattle excreta applied to a Scottish grassland: Effects of soil and climatic conditions and a nitrification inhibitor. **Science Of The Total Environment**, [s.l.], v. 508, p.343-353, 2015.

BOLAN, N. S. et al. Gaseous Emissions of Nitrogen from Grazed Pastures: Processes, Measurements and Modelling, Environmental Implications, and Mitigation. **Advances In Agronomy**, [s.l.], p.37-120, 2004.

CAI, Y.; CHANG, S. X.; CHENG, Y. Greenhouse gas emissions from excreta patches of grazing animals and their mitigation strategies. **Earth-science Reviews**, [s.l.], v. 171, p.44-57, 2017.

CALSAMIGLIA, S. et al. Strategies for optimizing nitrogen use by ruminants. **Animal**, [s.l.], v. 4, n. 07, p.1184-1196, 2010.

CARULLA, J. E. et al. Supplementation of *Acacia mearnsii* tannins decreases methanogenesis and urinary nitrogen in forage-fed sheep. **Australian Journal Of Agricultural Research**, [s.l.], v. 56, n. 9, p.961-970, 2005.

COLIN-SCHOELLEN, O; JURJANZ, S; LAURENT, F. Metabolizable protein supply (PDIE) and restricted level of ruminally degradable nitrogen (PDIN) in total mixed rations: effect on milk production and composition and on nitrogen utilization by dairy cows. **Livestock Production Science**, [s.l.], v. 67, n. 1-2, p.41-53, 2000.

COLMENERO, J. J. O.; BRODERICK, G. A. Effect of Dietary Crude Protein Concentration on Milk Production and Nitrogen Utilization in Lactating Dairy Cows. **Journal Of Dairy Science**, [s.l.], v. 89, n. 5, p.1704-1712, 2006.

DEAVILLE, E.R.; GIVENS, D.I.; MUELLER-HARVEY, I. Chestnut and mimosa tannin silages: Effects in sheep differ for apparent digestibility, nitrogen utilisation and losses. **Animal Feed Science And Technology**, [s.l.], v. 157, n. 3-4, p.129-138, 2010.

DIJKSTRA, J. et al. Predicting the profile of nutrients available for absorption: from nutrient requirement to animal response and environmental impact. **Animal**, [s.l.], v. 1, n. 01, p.99-111, 2007.

DIJKSTRA, J. et al. Diet effects on urine composition of cattle and N₂O emissions. **Animal**, [s.l.], v. 7, n. 2, p.292-302, 2013.

ECKARD, R. J. et al. Gaseous nitrogen loss from temperate perennial grass and clover dairy pastures in south-eastern Australia. **Australian Journal Of Agricultural Research**, [s.l.], v. 54, n. 6, p.561-570, 2003.

EMBRAPA. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 2. ed. – Rio de Janeiro: EMBRAPA-SPI, 2006.

EMBRAPA. **Manual de métodos de análise de solos**. 2. ed. rev. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2011.

FRUTOS, P. et al. Review. Tannins and ruminant nutrition. **Spanish Journal Of Agricultural Research**, [s.l.], v. 2, n. 2, p.191-202, 2004.

GERLACH, K.; PRIES, M.; SÜDEKUM, K. Effect of condensed tannin supplementation on in vivo nutrient digestibilities and energy values of concentrates in sheep. **Small Ruminant Research**, [s.l.], v. 161, p.57-62, 2018.

GRAINGER, C. et al. Potential use of *Acacia mearnsii* condensed tannins to reduce methane emissions and nitrogen excretion from grazing dairy cows. **Canadian Journal Of Animal Science**, [s.l.], v. 89, n. 2, p.241-251, jun. 2009.

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

HRISTOV, A. N. et al. Effect of carbohydrate source on ammonia utilization in lactating dairy cows¹. **Journal Of Animal Science**, [s.l.], v. 83, n. 2, p.408-421, 2005.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e estatística. **Censo agro resultados preliminares 2017**. Disponível em:
<https://censoagro2017.ibge.gov.br/templates/censo_agro/resultadosagro/pecuaria.html>.
Acesso em: 15/01/2019.

INRA. **Alimentation des bovins, ovins et caprins**: besoins des animaux, valeurs des aliments. França: Editions Quae, 2007.

INRA. Feeding system for ruminants. Wageningen Academix Publishers, Wageningrn, Netherlands, 2018.

IPCC. Emissions from Livestock and Manure Management. Volume 4: Agricultura, Forestry and Other Land Use, in: Guidelines for National Greenhouse Gas Inventories, 2006.

JARDSTEDT, M. et al. Feed intake and urinary excretion of nitrogen and purine derivatives in pregnant suckler cows fed alternative roughage-based diets. **Livestock Science**, [s.l.], v. 202, p.82-88, 2017.

JOLLIFFE, I.T. **Principal component analysis**. New York: Springer-Verlag. 271p, 1986.

KLEIN, C. A. M. de et al. Estimating a nitrous oxide emission factor for animal urine from some New Zealand pastoral soils. **Australian Journal Of Soil Research**, [s.l.], v. 41, n. 3, p.381-399, 2003.

KLEIN, C. A. M. de; LEDGARD, S. F.. Nitrous Oxide Emissions from New Zealand Agriculture – key Sources and Mitigation Strategies. **Nutrient Cycling In Agroecosystems**, [s.l.], v. 72, n. 1, p.77-85, 2005.

KLEIN, C. A. M. de; ECKARD, R. J.. Targeted technologies for nitrous oxide abatement from animal agriculture. **Australian Journal Of Experimental Agriculture**, [s.l.], v. 48, n. 2, p.14-20, 2008.

KLEIN, C. A.M. de et al. The effect of nitrogen concentration in synthetic cattle urine on nitrous oxide emissions. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, [s.l.], v. 188, p.85-92, 2014.

KOMOLONG, M.K.; BARBER, D.G.; MCNEILL, D.M.. Post-ruminal protein supply and N retention of weaner sheep fed on a basal diet of lucerne hay (*Medicago sativa*) with increasing levels of quebracho tannins. **Animal Feed Science And Technology**, [s.l.], v. 92, n. 1-2, p.59-72, 2001.

KOZLOSKI, G. V. **Bioquímica dos Ruminantes**. 3a edição ed. Santa Maria: Editora UFSM, 2011.

KROL, D.J. et al. Improving and disaggregating N₂O emission factors for ruminant excreta on temperate pasture soils. **Science Of The Total Environment**, [s.l.], v. 568, p.327-338, 2016.

LAVILLE, P. et al. Effect of management, climate and soil conditions on N₂O and NO emissions from an arable crop rotation using high temporal resolution measurements. **Agricultural And Forest Meteorology**, [s.l.], v. 151, n. 2, p.228-240, 2011.

LESSA, A. C. R. et al. Bovine urine and dung deposited on Brazilian savannah pastures contribute differently to direct and indirect soil nitrous oxide emissions. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, [s.l.], v. 190, p.104-111, 2014.

LUO, J. et al. Nitrous oxide emission factors for urine and dung from sheep fed either fresh forage rape (*Brassica napus* L.) or fresh perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.). **Animal**, [s.l.], v. 9, n. 03, p.534-543, 2014.

LUO, J. et al. Using alternative forage species to reduce emissions of the greenhouse gas nitrous oxide from cattle urine deposited onto soil. **Science Of The Total Environment**, [s.l.], v. 610-611, p.1271-1280, 2018.

MAKKAR, H. P. S.; BLÜMMEL, M.; BECKER, K.. In vitro effects of and interactions between tannins and saponins and fate of tannins in the rumen. **Journal Of The Science Of Food And Agriculture**, [s.l.], v. 69, n. 4, p.481-493, 1995.

MAKKAR, H.P.S. Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. **Small Ruminant Research**, [s.l.], v. 49, n. 3, p.241-256, 2003.

MCNABB, W. C. et al. Effect of condensed tannins prepared from several forages on their *in vitro* precipitation of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase (Rubisco) protein and its digestion by trypsin (EC 2.4.21.4) and chymotrypsin (EC 2.4.21.1). **Journal Of The Science Of Food And Agriculture**, [s.l.], v. 77, n. 2, p.201-212, 1998.

MCTI. Estimativas anuais de emissões de gases de efeito estufa - 2a edição. MCTI, Brasília, 2014.

MERTENS, D. R. et al. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beakers or crucibles: Collaborative study. **Journal of AOAC International**, v. 85, n. 6, p. 1217–1240, 2002.

MILLER, L. A. et al. Increased concentration of water-soluble carbohydrate in perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.): milk production from late-lactation dairy cows. **Grass And Forage Science**, [s.l.], v. 56, n. 4, p.383-394, 2001.

MIN, B.R et al. The effect of condensed tannins on the nutrition and health of ruminants fed fresh temperate forages: a review. **Animal Feed Science And Technology**, [s.l.], v. 106, n. 1-4, p.3-19, 2003.

MOSIER, A. R. Chamber and isotope techniques. In: ANDREAE, M. O.; D.S., S. (Ed.). Exchange of trace gases between terrestrial ecosystems and the atmosphere: report of the Dahlem Workshop. Berlin: Wiley, p. 175–187, 1989.

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

OENEMA, O. et al. Nitrous oxide emissions from grazed grassland. **Soil Use And Management**, [s.l.], v. 13, n. 4, p.288-295, 1997.

OENEMA, O. et al. Trends in Global Nitrous Oxide Emissions from Animal Production Systems. **Nutrient Cycling In Agroecosystems**, [s.l.], v. 72, n. 1, p.51-65, 2005.

RAVISHANKARA, A. R.; DANIEL, J. S.; PORTMANN, R. W.. Nitrous Oxide (N₂O): The Dominant Ozone-Depleting Substance Emitted in the 21st Century. **Science**, [s.l.], v. 326, n. 5949, p.123-125, 2009.

ROCHETTE, P. et al. Soil Nitrous Oxide Emissions after Deposition of Dairy Cow Excreta in Eastern Canada. **Journal Of Environment Quality**, [s.l.], v. 43, n. 3, p.829-841, 2014.

SAGGAR, S. et al. Intensification in Pastoral Farming: Impacts on Soil Attributes and Gaseous Emissions. **Soil Biology**, [s.l.], p.207-236, 2011.

SANCHEZ-MARTÍN, L. et al. Diet management to effectively abate N₂O emissions from surface applied pig slurry. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 239, p. 1-11, 2017.

SORDI, A. et al. Nitrous oxide emission factors for urine and dung patches in a subtropical Brazilian pastureland. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 190, p. 94–103, 2014.

SPEK, J.W. et al. Interaction between dietary content of protein and sodium chloride on milk urea concentration, urinary urea excretion, renal recycling of urea, and urea transfer to the gastrointestinal tract in dairy cows. **Journal Dairy Science**, v. 96, p. 5734–5745, 2013.

TAMMINGA, S. Protein Degradation in the Forestomachs of Ruminants. **Journal Of Animal Science**, [s.l.], v. 49, n. 6, p.1615-1630, 1979.

TAMMINGA, S. Nutrition Management of Dairy Cows as a Contribution to Pollution Control. **Journal Of Dairy Science**, [s.l.], v. 75, n. 1, p.345-357, 1992.

TAMMINGA, S. The effect of the supply of rumen degradable protein and metabolisable protein on negative energy balance and fertility in dairy cows. **Animal Reproduction Science**, [s.l.], v. 96, n. 3-4, p.227-239, 2006.

TEDESCHI, L. O. et al. Models of protein and amino acid requirements for cattle. **Revista Brasileira de Zootecnia**, [s.l.], v. 44, n. 3, p.109-132, mar. 2015.

VAN GROENIGEN, J. W. et al. Nitrous oxide emission from urine-treated soil as influenced by urine composition and soil physical conditions. **Soil Biology And Biochemistry**, [s.l.], v. 37, n. 3, p.463-473, 2005.

WAGHORN, G. Beneficial and detrimental effects of dietary condensed tannins for sustainable sheep and goat production—Progress and challenges. **Animal Feed Science And Technology**, [s.l.], v. 147, n. 1-3, p.116-139, 2008.