

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

FELIPE BRATTI

NABO FORRAGEIRO (*Raphanus sativus* L.) CONSORCIADO COM AVEIA PRETA
(*Avena strigosa*) COMO ESTRATÉGIA DE MITIGAÇÃO DE EMISSÕES DE ÓXIDO
NITROSO A PARTIR DE URINA BOVINA

CURITIBA

2021

FELIPE BRATTI

NABO FORRAGEIRO (*Raphanus sativus* L.) CONSORCIADO COM AVEIA PRETA
(*Avena strigosa*) COMO ESTRATÉGIA DE MITIGAÇÃO DE EMISSÕES DE ÓXIDO
NITROSO A PARTIR DE URINA BOVINA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, Área de Concentração em Qualidade, Manejo e Conservação do Solo e da Água, Departamento de Solos e Engenharia Agrícola, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência do Solo.

Orientador: Prof. Dr. Jeferson Dieckow
Coorientador: Prof. Dr. Jonatas Thiago Piva
Coorientador: Dra. Josiléia Acordi Zanatta

CURITIBA

2021

Bratti, Felipe

Nabo forrageiro (*Raphanus sativus L.*) consorciado com aveia preta (*Avena strigosa*) como estratégia de mitigação de emissões de óxido nitroso a partir de urina bovina. / Felipe Bratti. - Curitiba, 2021.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Paraná. Setor de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo.
Orientador: Jeferson Dieckow.

Coorientador: Jonatas Thiago Piva.

Coorientadora: Josiléia Acordi Zanatta.

1. Urina - Nitrogênio. 2. Nitrificação. 3. Consorciação de plantas. 4. Nabo forrageiro. I. Dieckow, Jeferson. II. Piva, Jonatas Thiago. III. Zanatta, Josiléia Acordi. IV Título. V. Universidade Federal do Paraná.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO CIÊNCIA DO SOLO -
40001016014P4

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIA DO SOLO da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da Dissertação de Mestrado de **FELIPE BRATTI** intitulada: **NABO FORRAGEIRO (*Raphanus sativus*) CONSORCIADO COM AVEIA PRETA (*Avena strigosa*) COMO ESTRATÉGIA DE MITIGAÇÃO DE EMISSÕES DE ÓXIDO NITROSO A PARTIR DE URINA BOVINA**, sob orientação do Prof. Dr. JEFERSON DIECKOW, que após terem inquirido o aluno e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de mestre está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 24 de Fevereiro de 2021.

Assinatura Eletrônica

24/02/2021 17:48:10.0

JEFERSON DIECKOW

Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica

24/02/2021 18:01:06.0

ANTONIO CARLOS VARGAS MOTTA

Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica

24/02/2021 17:49:30.0

JONATAS THIAGO PIVA

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO
PARANÁ)

Assinatura Eletrônica

24/02/2021 18:31:39.0

PRISCILA LUZIA SIMON

Avaliador Externo (AGRESEARCH)

Rua dos Funcionários, 1540 - CURITIBA - Paraná - Brasil
CEP 80035-050 - Tel: (41) 3350-5648 - E-mail: pgcisolo@ufpr.br

Documento assinado eletronicamente de acordo com o disposto na legislação federal Decreto 8539 de 08 de outubro de 2015.

Gerado e autenticado pelo SIGA-UFPR, com a seguinte identificação única: 77097

Para autenticar este documento/assinatura, acesse <https://www.prppg.ufpr.br/siga/visitante/autenticacaoassinaturas.jsp>
e insira o código 77097

“Tudo tem o seu tempo determinado, e há tempo para todo o propósito debaixo do céu.

*Há tempo de nascer, e tempo de morrer;
tempo de plantar, e tempo de arrancar o que se plantou;*

Tempo de matar, e tempo de curar; tempo de derrubar, e tempo de edificar;

Tempo de chorar, e tempo de rir; tempo de prantejar, e tempo de dançar;

Tempo de espalhar pedras, e tempo de ajuntar pedras; tempo de abraçar, e tempo de afastar-se de abraçar;

Tempo de buscar, e tempo de perder; tempo de guardar, e tempo de lançar fora;

Tempo de rasgar, e tempo de coser; tempo de estar calado, e tempo de falar;

Tempo de amar, e tempo de odiar; tempo de guerra, e tempo de paz.” (...)

Eclesiastes 3:1-8

Aos meus valorosos pais, José Bratti e Neldi Terezinha Villani Bratti pelo exemplo de caráter, inspiração e conduta.

A minha irmã, Fernanda Heloisa Bratti, pelo companheirismo e amizade.

Ao meu tio Ademar Bratti (in memoriam) pelo incentivo aos estudos.

Aos meus avós Jacinto Bratti (in memoriam) e Albina Della Justina Bratti (in memoriam) pelo exemplo de vida.

Em especial dedico a minha tia Maria Eli Bratti (in memoriam) pelo carinho, e por compartilhar da verdadeira essência do amor.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Agradeço acima de tudo a Deus pelo dom da vida, pela saúde, livramentos, bênçãos e oportunidades, e por agraciar meu caminho com pessoas que de alguma maneira, contribuíram para meu crescimento profissional e pessoal.

Aos meus pais, José e Neldi, por todo amor e esforço incondicional para que eu pudesse desfrutar das melhores condições de vida; pelo exemplo de caráter, honestidade, e persistência junto aos objetivos. Sou eternamente grato por caminharem comigo, e tornarem possíveis todas as conquistas até aqui.

Ao meu orientador, prof. Dr. Jeferson Dieckow pela paciência, amizade, conselhos, ensinamentos e pela disponibilidade e disposição em auxiliar a todo momento na edificação desse trabalho. Agradeço por acreditar em mim, e por ser um excelente profissional.

Aos demais professores do Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, por todo conhecimento compartilhado, pela competência, dedicação e a disposição, independente do momento; aos técnicos de laboratório, Carla, Maria, Fabiane e Josiane pela colaboração nas análises, e pela troca de experiências durante o breve convívio; aos demais servidores da Universidade Federal do Paraná, em especial a Denise, por todos os conselhos, incentivo e encorajamento, e pela amizade.

Ao meu co-orientador, prof. Dr. Jonatas Thiago Piva, por abrir as portas da pesquisa durante a graduação, pelos conselhos, incentivo, disposição e as cobranças rotineiras, que fazem de mim uma pessoa melhor a cada dia, e a minha co-orientadora, Dr. Josiléia Acordi Zanatta, por todo auxílio nas análises laboratoriais, e pelo esforço contínuo para atender o cronograma de trabalho.

Ao Ricardo e a Mariana, por abrirem as portas do seu lar e pela confortável receptividade em fevereiro de 2019, durante a vinda para a entrevista de mestrado, e por toda a amizade cultivada desde então; também ao Ricardo, por todos os momentos compartilhados durante o convívio nos experimentos, as discussões científicas e o conhecimento construído nesse período.

Ao grupo de pesquisa em Manejo e Conservação do Solo, em especial a Bruna, Mariana, Ricardo, Henrique, Marcelo e Kellin pelo auxílio no campo, laboratório, pela troca de experiências, e discussões científicas. A Priscila, que

mesmo não estando mais no grupo, se fez presente durante o planejamento desse trabalho com ideias e sugestões valiosas.

Às amizades construídas e cultivadas nesse período, em especial ao Rodrigo, Ederlan, Amanda, Bruna, Elida, Feliciano, Gustavo, Stallone, Edivaldo e Valdécio, por todo companheirismo nas aulas, viagens, jogos de futebol, conselhos e experiências compartilhadas, e também, aos amigos Jorge e Marcos, que mesmo de longe, estiveram presentes para discussões científicas.

Por fim, agradeço a todos aqueles que tornaram meus dias melhores, desejando saúde e prosperidade a todos!!

RESUMO

Emissões de gases do efeito estufa (GEE) pelas atividades pecuárias têm contribuído para elevar o potencial de aquecimento global, e isso é relevante para o Brasil, cujo rebanho bovino ultrapassa 220 milhões de cabeças. Grande parte dessas emissões é atribuída à deposição de dejetos animais em pastagens, através da conversão de parte do nitrogênio dos dejetos em óxido nitroso (N_2O). Algumas espécies de plantas da família Brassicaceae foram identificadas pelo seu potencial em inibir a nitrificação no solo, através da produção e exsudação de metabólitos secundários, o que motivou o presente estudo com o nabo forrageiro (*Raphanus sativus* L.). O objetivo desse trabalho foi avaliar a capacidade do nabo forrageiro consorciado em diferentes proporções com a pastagem de aveia preta em mitigar as emissões diretas de N_2O a partir de urina bovina. O experimento de campo foi conduzido na Fazenda Experimental Canguiri, pertencente à Universidade Federal do Paraná, situada no município de Pinhais-PR. Os tratamentos consistiram em cinco proporções de nabo forrageiro consorciado com a pastagem de aveia preta sendo P0 (proporção zero de nabo, 100% aveia preta); P15 (15% nabo forrageiro e 85% aveia preta); P30 (30% nabo forrageiro e 70% aveia preta); P60 (60% nabo forrageiro e 40% aveia preta) e P100 (100% nabo forrageiro). O delineamento experimental foi em blocos ao acaso, com 4 repetições, em esquema de parcelas subdivididas (com e sem aplicação de urina). A urina foi coletada de vacas leiteiras em plena lactação, e foi aplicada diretamente em microparcels delimitadas por uma base de metal com $0,1819\text{ m}^2$, inserida no solo, que também serviu para acoplar as câmaras de amostragem de ar. As coletas de ar foram realizadas pelo método de câmaras estáticas e as amostras foram analisadas por cromatografia gasosa. Também foram determinadas a porosidade preenchida por água (PPA) e as concentrações de nitrogênio inorgânico ($N-NH_4^+$ e $N-NO_3^-$), por meio da coleta de solo na camada de 0-5 cm. As avaliações tiveram duração de 71 dias, nos meses de outubro a dezembro de 2019, finalizando com a senescência da aveia preta e a redução nos teores de N inorgânico para níveis basais do solo. O aumento nas proporções de nabo forrageiro em consórcio com a pastagem de aveia preta reduziu linearmente as emissões de N_2O das manchas de urina, mas não houve evidências de que essa redução estivesse associada a inibição da nitrificação, pois quanto maior foi a proporção de nabo forrageiro, maiores foram as concentrações de amônio e também de nitrato do solo. A umidade do solo expressa pelo valor de PPA foi possivelmente o principal fator responsável por regular os fluxos de N_2O , sendo que as maiores proporções de nabo tiveram os menores valores de PPA, o que pode ter reduzido a emissão de N_2O via desnitrificação. As proporções P100 e P60 de nabo reduziram de 31-47% as emissões acumuladas de N_2O , e o fator de emissão em P100 foi 0,31%, mais baixo que o fator de 0,61% na pastagem de aveia pura (P0); e ambos bem abaixo dos 2% preconizado pelo IPCC. O efeito de inibição biológica da nitrificação não pode ser justificado pelos valores de N-nitrato no solo. Nesse sentido, novos estudos precisam ser desenvolvidos para esclarecer os mecanismos responsáveis pela redução das emissões de N_2O em manchas de urina com o uso de nabo forrageiro em consórcio com aveia preta.

Palavras chaves: Nitrogênio da urina; nitrificação; consórcio; *Brassicaceae*.

ABSTRACT

Greenhouse gas emissions from livestock activity have contributed to the global warming potential, which is relevant for Brazil, whose cattle herd exceeds 220 million head. A large part of these emissions is attributed to the deposition of animal waste in pastures, through the conversion of part of the nitrogen in the waste into nitrous oxide (N₂O). Some plant species of the Brassicaceae family have been identified for their potential to inhibit nitrification in the soil, through the production and exudation of secondary metabolites, which motivated the present study with forage turnip (*Raphanus sativus* L.). The objective this work was to evaluate the ability of forage turnip intercropped in different proportions with black oat pasture to mitigate direct N₂O emissions from bovine urine. The field experiment was conducted at Fazenda Experimental Canguiri, belonging to the Federal University of Parana, located in the municipality of Pinhais-PR. The treatments consisted of five proportions of forage turnip intercropped with black oat pasture, being P0 (zero turnip ratio, 100% black oats); P15 (15% forage turnip and 85% black oats); P30 (30% forage turnip and 70% black oats); P60 (60% forage turnip and 40% black oats) and P100 (100% forage turnip). The experimental design was in randomized blocks, with 4 replicates, in a split plot scheme (with and without urine application). The urine was collected from dairy cows in full lactation and was applied directly to microplots bounded by a metal base measuring 0,1819 m², inserted in the soil, which also served to couple the air sampling chambers. Air samplings were performed using the static chamber method and samples were analysed by gas chromatography. Water-filled pore space (WFPS) and inorganic nitrogen concentrations (N-NH₄⁺ and N-NO₃⁻) were also determined by sampling soil in the 0-5 cm layer. The evaluations lasted 71 days, from October to December 2019, ending in senescence of black oats and a reduction in the levels of inorganic N to basal soil levels. The increase in the proportion of forage turnip intercropped with black oat pasture linearly reduced N₂O emissions from urine patches, but there was no evidence that this reduction was associated to inhibition of nitrification, as the greater the proportion of forage turnip, higher were ammonium and also nitrate concentrations. Soil moisture expressed by WFPS value was possibly the main factor responsible for regulating N₂O fluxes, with the highest proportions of turnip having the lowest WFPS values, which may have reduced N₂O emissions via denitrification. The proportions with P100 and P60 turnip decreased the cumulative emissions by 31-47%, and the emission factor in P100 was 0.31%, lower than the 0.61% factor in pure oat pasture (P0); and both well below the 2% recommended by the IPCC. The biological inhibiting effect of nitrification cannot be justified by the N-nitrate values in the soil. In this sense, new studies need to be developed to clarify the mechanisms responsible for the reduction of N₂O emissions in urine stains with the use of forage turnip intercropped with black oats.

Keywords: Urine nitrogen; nitrification; consortium; *Brassicaceae*.

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1.** REPRESENTAÇÃO DA BASE DE METAL UTILIZADA PARA ACOPLAGEM DAS CÂMARAS DE COLETA DE AR E SUAS DIMENSÕES. PINHAIS – PARANÁ, 2019.....25
- FIGURA 2.** PRECIPITAÇÃO (BARRAS, MM) E TEMPERATURA MÉDIA DIÁRIA DO AR (LINHA TRACEJADA, C°) DURANTE O PERÍODO DE 30/07/2019 A 21/12/2019. PINHAIS – PARANÁ, 2019.....31
- FIGURA 3.** FLUXO DE ÓXIDO NITROSO DE MANCHAS DE URINA EM PASTOS DE AVEIA PRETA CONTENDO PROPORÇÕES DE NABO FORRAGEIRO DE 0% (P0), 15% (P15), 30% (P30), 60% (P60) E 100% (P100). OS ENSAIOS INCLUÍRAM TRATAMENTOS CONTROLE, REPRESENTADOS NO GRÁFICO PELA LETRA “X” DA COR DO RESPECTIVO TRATAMENTO. PINHAIS - PARANÁ, 2019.....32
- FIGURA 4.** EMISSÃO ACUMULADA DE OXIDO NITROSO (A) E FATOR DE EMISSÃO (B) DE MANCHAS DE URINA EM PASTOS DE AVEIA PRETA CONTENDO PROPORÇÕES DE NABO FORRAGEIRO DE 0% (P0), 15% (P15), 30% (P30), 60% (P60) E 100% (P100). PERÍODO DE AVALIAÇÃO FOI 71 DIAS APÓS APLICAÇÃO DA URINA. (P<0.05). PINHAIS - PARANÁ, 2019.....33
- FIGURA 5.** CONCENTRAÇÃO DE AMÔNIO (A) E NITRATO (B), DE 0 A 5 CM DE PROFUNDIDADE DO SOLO EM PASTOS DE AVEIA PRETA CONTENDO PROPORÇÕES DE NABO FORRAGEIRO DE 0% (P0), 15% (P15), 30% (P30), 60% (P60) E 100% (P100). (P<0.05). OS ENSAIOS INCLUÍRAM TRATAMENTOS CONTROLE, REPRESENTADOS NO GRÁFICO PELA LETRA “X” DA COR DO RESPECTIVO TRATAMENTO. PINHAIS - PARANÁ, 2019.....35
- FIGURA 6.** INTENSIDADE DE AMÔNIO (A) E NITRATO (B) DO SOLO AMOSTRADO NA CAMADA DE 0 A 5 CM EM PASTOS DE AVEIA PRETA CONTENDO PROPORÇÕES DE NABO FORRAGEIRO DE 0% (P0), 15% (P15),

30% (P30), 60% (P60) E 100% (P100). PERÍODO DE AVALIAÇÃO FOI 71 DIAS APÓS APLICAÇÃO DA URINA. PINHAIS - PARANÁ, 2019.....36

FIGURA 7. TAXA DE VARIAÇÃO NA CONCENTRAÇÃO DE NITRATO ($\Delta \text{N-NO}_3^-$) NO SOLO EM PASTOS DE AVEIA PRETA CONTENDO PROPORÇÕES DE NABO FORRAGEIRO DE 0% (P0), 15% (P15), 30% (P30), 60% (P60) E 100% (P100). PERÍODO DE AVALIAÇÃO FOI 71 DIAS APÓS APLICAÇÃO DA URINA. PINHAIS - PARANÁ, 2019.....37

FIGURA 8. RELAÇÃO ENTRE O ACUMULADO DE ÓXIDO NITROSO E AS INTENSIDADES DE AMÔNIO (7A) E NITRATO (7B) EM PASTOS DE AVEIA PRETA CONTENDO PROPORÇÕES DE NABO FORRAGEIRO DE 0% (P0), 15% (P15), 30% (P30), 60% (P60) E 100% (P100). PERÍODO DE AVALIAÇÃO FOI 71 DIAS APÓS APLICAÇÃO DA URINA. PINHAIS - PARANÁ, 2019.....38

FIGURA 9. POROSIDADE PREENCHIDA POR ÁGUA (PPA) EM PASTOS DE AVEIA PRETA CONTENDO PROPORÇÕES DE NABO FORRAGEIRO DE 0% (P0), 15% (P15), 30% (P30), 60% (P60) E 100% (P100). (A) TRATAMENTOS COM URINA E (B) TRATAMENTOS CONTROLE. PERÍODO DE AVALIAÇÃO FOI 71 DIAS APÓS APLICAÇÃO DA URINA. PINHAIS - PARANÁ, 2019.....40

FIGURA 10. POROSIDADE PREENCHIDA POR ÁGUA (PPA) PONDERADA DOS TRATAMENTOS COM URINA (A) E CONTROLE (B) EM PASTOS DE AVEIA PRETA CONTENDO PROPORÇÕES DE NABO FORRAGEIRO DE 0% (P0), 15% (P15), 30% (P30), 60% (P60) E 100% (P100). PERÍODO DE AVALIAÇÃO FOI 71 DIAS APÓS APLICAÇÃO DA URINA. PINHAIS - PARANÁ, 2019.....42

FIGURA 11. RELAÇÃO ENTRE O ACUMULADO DE ÓXIDO NITROSO (N_2O) E A POROSIDADE PREENCHIDA POR ÁGUA (PPA) PONDERADA EM PASTOS DE AVEIA PRETA CONTENDO PROPORÇÕES DE NABO FORRAGEIRO DE 0% (P0), 15% (P15), 30% (P30), 60% (P60) E 100% (P100). PERÍODO DE AVALIAÇÃO FOI 71 DIAS APÓS APLICAÇÃO DA URINA. PINHAIS - PARANÁ, 2019.....43

LISTA DE ABREVIATURAS

N_2O - Óxido nitroso

$N-N_2O$ - Nitrogênio na forma de óxido nitroso

NO_3^- - Nitrato

NH_4^+ - Amônio

$N-NO_3^-$ - Nitrogênio na forma de nitrato

$N-NH_4^+$ - Nitrogênio na forma de amônio

NH_3 - Amônia

PPA - Porosidade preenchida por água

IPCC - Painel Intergovernamental sobre Mudanças Climáticas

FE - Fator de emissão

IBN – Inibidor biológico da nitrificação

GLS – Glucosinolatos

AMO – Amônio monooxigenase

HAO – hidroxilamina oxidoreductase

LISTA DE SÍMBOLOS

μg - micrograma

mg - miligrama

$\mu\text{g m}^{-2} \text{h}^{-1}$ - micrograma por metro cuadrado por hora

g m^{-2} - gramas por metro cuadrado

g kg^{-1} - gramas por kilograma de solo

ρ - densidade de partícula

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
1.1 HIPÓTESES	21
1.2 OBJETIVOS	21
2 MATERIAL E MÉTODOS	22
2.1 ÁREA EXPERIMENTAL	22
2.2 TRATAMENTOS E DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	22
2.3 COLETA, CARACTERIZAÇÃO E APLICAÇÃO DE URINA BOVINA.....	24
2.4 AMOSTRAGEM DE AR DO SOLO PARA QUANTIFICAÇÃO DOS FLUXOS DE N ₂ O.....	25
2.5 ATRIBUTOS DO SOLO.....	28
2.5.1 Concentração de nitrogênio inorgânico (N-NH ₄ ⁺ e N-NO ₃ ⁻).....	28
2.5.2 Densidade do solo.....	28
2.5.3 Porosidade preenchida por água (PPA).....	29
2.5.4 Parâmetros meteorológicos.....	29
2.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA	30
3 RESULTADOS	31
3.1 PRECIPITAÇÃO PLUVIOMÉTRICA E TEMPERATURA DO AR.....	31
3.2 FLUXOS DE N ₂ O A PARTIR DE MANCHAS DE URINA	31
3.3 CONCENTRAÇÕES DE NH ₄ ⁺ E NO ₃ ⁻ DO SOLO.....	34
3.4 POROSIDADE PREENCHIDA POR ÁGUA (PPA).....	38
4 DISCUSSÃO	43
4.1 EFEITO DO NABO FORRAGEIRO NA REDUÇÃO DAS EMISSÕES DE N ₂ O ..	43
4.2 DINÂMICA TEMPORAL DAS EMISSÕES DE N ₂ O.....	47
4.3 FATOR DE EMISSÃO DA URINA BOVINA	48
5 CONCLUSÃO	50
REFERÊNCIAS	51
APÊNDICE	59

1 INTRODUÇÃO

O aumento das concentrações de gases do efeito estufa na atmosfera tem elevado o potencial de aquecimento global, e o resultado mais impactante desse processo são as alterações nos regimes de precipitação e temperatura, que implicam diretamente na capacidade das culturas agrícolas se adaptarem as condições ambientais extremas, e conseqüentemente, comprometem a produção de alimentos e outras atividades econômicas (IPCC, 2007; Lenton, 2011). As projeções do Painel Intergovernamental sobre Mudanças Climáticas (IPCC) sugerem que a escala e as taxas de mudanças estimuladas pela elevação nas concentrações de gases do efeito estufa podem alterar drasticamente a acessibilidade e a qualidade dos recursos naturais (IPCC, 2014). Entre os principais gases do efeito estufa, o óxido nitroso (N_2O) destaca-se por apresentar um potencial de aquecimento global que excede 300 vezes o do dióxido de carbono (CO_2), e com um período de residência atmosférico de até 100 anos (Foster et al., 2007; Grifis et al., 2017).

As atividades agrícolas são responsáveis por 10 a 14% das emissões globais de gases do efeito estufa (Smith et al., 2007; Francesco et al. 2013), e respondem por 60% das emissões antropogênicas de N_2O , sendo que a maior parte do N_2O emitido é atribuído ao uso de fertilizantes nitrogenados e a deposição de dejetos animais em pastagens (IPCC, 2014; Reay et al., 2012; Broucek, 2017). No Brasil, as emissões geradas pela deposição de dejetos animais em pastagens correspondem por 34% do total emitido pelas atividades agropecuárias (MCTIC, 2017), sendo que a maior parte das emissões é atribuída ao expressivo rebanho bovino, que ultrapassa 220 milhões de cabeças (IBGE, 2018). Esse impacto é um reflexo das atividades pecuárias, que são predominantemente compostas por sistemas de pastoreio extensivo, onde altos níveis de nitrogênio são perdidos em ambientes sensíveis (pastagens degradadas e taxas de lotação que excedem a capacidade da pastagem). As deposições de nitrogênio em manchas de urina no solo podem atingir taxas equivalentes a $1000 \text{ kg N ha}^{-1}$ (média de 613 kg N ha^{-1}) (Haynes e Williams, 1993; Selbie et al., 2015), enquanto que as manchas de esterco podem atingir taxas que variam de 200 a 800 kg N ha^{-1} (Oenema et al., 1997).

A elevada concentração de nitrogênio nos dejetos resulta do baixo aproveitamento desse nutriente pelos ruminantes, sendo que 70 a 95% do nitrogênio consumido na alimentação é excretado de forma localizada sobre o solo (Oenema et

al., 2005; Selbie et al., 2015). Estima-se que a quantidade de N em manchas de urina pode exceder cerca de 2 a 3 vezes a capacidade de absorção pelas plantas (Blennerhasset et al., 2006), aumentando assim o potencial de produção de N_2O pelos processos de nitrificação e desnitrificação (Baggs e Philippot, 2010). Além disso, aumenta também o potencial de perda de nitrogênio por lixiviação de nitrato (NO_3^-) e por volatilização de amônia (NH_3) (Di e Cameron, 2016; Luo et al., 2010; Soussana e Lemaire, 2014).

Para estimar as emissões de N_2O em sistemas pecuários, o IPCC estabeleceu um fator de emissão (FE) padrão de 2% para o N contido na urina e esterco de bovinos em pastagens, com base em estudos conduzidos principalmente em regiões de clima temperado (IPCC, 1997). No entanto, há uma incerteza nessas estimativas (de 0,7-6,0%), devido as condições específicas de cada país ou região, que incluem diferentes tipos de solo, sistemas de manejo da pastagem, temperatura e precipitação (Barneze et al., 2014; IPCC, 2006). Além disso, o IPCC não faz distinção entre os FEs de urina e de esterco, apesar da diferente composição entre esses dejetos. Isso levanta a hipótese que as emissões são relativamente maiores na urina, onde o N está basicamente em uma forma solúvel e, portanto, mais facilmente hidrolisável do que no esterco, que se encontra em estruturas orgânicas mais complexas (Luo et al., 2009).

A variabilidade de fatores que podem influenciar direta ou indiretamente nas emissões de N_2O torna necessário o desenvolvimento de FE's específicos, com base em estudos desenvolvidos nas condições ambientais de cada país, o que de fato, aumenta a confiabilidade dos inventários nacionais de emissão de gases do efeito estufa (Simon et al., 2018). A exemplo dessa medida, Nova Zelândia e Austrália adotaram FE's específicos, sugerindo valores abaixo daqueles estimados pelo IPCC (IPCC, 2006) (Austrália, 2012; New Zealand, 2017), corroborando com estudos realizados no Brasil em condições de clima subtropical (Sordi et al., 2014; Simon et al., 2018), e tropical (Barneze et al., 2014; Cardoso et al., 2018).

Diversas estratégias foram testadas para mitigar as emissões de N_2O em sistemas agrícolas, incluindo pesquisas focadas no solo (Butterbach-Bahl et al., 2013; Van Groenigen et al., 2015), seguido pelo desenvolvimento de modelos produtivos mais eficientes, como os sistemas integrados de produção agropecuária (Piva et al., 2014; Piva et al., 2019; Ribeiro et al., 2020), o uso de inibidores sintéticos da nitrificação (Cardenas et al., 2016; Di & Cameron, 2005; Simon et al.,

2018; Luo et al., 2015b; Luo et al., 2016); e mais recentemente, o uso de plantas com a capacidade de inibir a atividade das bactérias nitrificantes do solo (Subbarao et al., 2015; Luo et al., 2015a; Di et al., 2016; Hoogendoorn et al., 2016; Balvert et al., 2017; Gardiner et al., 2017; Simon et al., 2019; de Klein et al., 2019).

Os inibidores biológicos da nitrificação (IBNs) são compostos provenientes do metabolismo secundário das plantas, e que geralmente são liberados no solo via exsudação radicular, pela decomposição dos resíduos de superfície (palhada), ou podem exercer um efeito diurético na dieta dos animais alimentados com a forragem dessas espécies, sendo que a hidrólise desses compostos atua diretamente na supressão das comunidades nitrificantes do solo (Subbarao et al., 2015; Balvert et al., 2017; Byrnes et al., 2017). Diversos estudos identificaram uma variedade de plantas com potencial de inibir a nitrificação no solo. O sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench) por exemplo, produz compostos como a sakuranetina e a sorgoleona, que atuam inibindo as enzimas amônio monooxigenase (AMO) e hidroxilamina oxidoreductase (HAO) das bactérias nitrificantes *Nitrosomonas* (Subbarao et al., 2012). Além disso, em plantas de *Brachiaria humidicola* também foram encontrados exsudatos com potencial inibitório, como a braquialactona, que também inibe a AMO e a HAO (Subbarao et al., 2007; Subbarao et al., 2009). Experimentos conduzidos na Nova Zelândia, demonstraram que o consórcio de plantain (*Plantago lanceolata* L.) com pastagem de azevém e trevo branco tem sido uma opção promissora para reduzir as emissões de N₂O (Luo et al., 2018; de Klein et al., 2019; Simon et al., 2019), pois o plantain produz um composto denominado aucubina, que reduz a quantidade de N excretado na urina ou pode atuar inibindo a atividade da AMO no solo (Bartholomeus e Ahokas, 1995).

Além disso, estudos também evidenciaram o potencial de espécies da família *Brassicaceae* em produzir IBNs. De acordo com alguns autores (Luo et al., 2015; Di et al., 2016; Gardiner et al., 2016; Balvert et al., 2017), os glucosinolatos (GLS) são importantes fitoquímicos bioativos, e a hidrólise desse composto resulta em diversos produtos, como isotiocianatos (ITCs), tiocianatos e nitrilos, que se mostraram eficientes inibidores da nitrificação em solo incubado (Bending e Lincoln, 2000). Nesses estudos de incubação, Bending e Lincoln (2000) observaram que os ITCs inibiam o crescimento das populações de bactérias oxidantes de amônio (NH₄⁺), sendo o fenil-ITC o composto mais tóxico dos ITCs testados. A incorporação dos tecidos de brássicas no solo também demonstrou potencial inibitório sobre a

nitrificação (Bending e Lincoln, 2000; Snyder et al., 2010). Brown e Morra (2009) observaram que os tecidos de *Brassica juncea*, *Brassica napus* e *Sinapis alba* L. atrasaram a nitrificação (indicada pelo acúmulo de NH_4^+), devido as maiores concentrações de GLS formadores de ITC, que por sua vez interagem com grupos sulfidrila de proteínas (Kawakishi e Kaneko, 1985 e 1987), comportando-se como biocidas.

O efeito dos IBN também foi observado nos dejetos de ovinos alimentados com colza (*Brassica napus* L.), onde a concentração de N excretado na urina foi semelhante à dos animais alimentados com azevém (*Lolium perene* L.), mas com uma menor concentração de N no esterco (Luo et al., 2015a). Além disso, constataram que o FE da urina foi menor para os ovinos alimentados com colza em relação aos alimentados com azevém, o que pode estar relacionado a liberação de metabólitos secundários provenientes da hidrólise dos GLS, consumidos na dieta e transferidos para a urina (Snyder et al., 2010; Luo et al., 2015). Experimentos com plantas também foram investigados no Brasil, mas, os resultados ainda não foram conclusivos, devido a necessidade de estudos mais profundos sobre a identificação desses compostos, os mecanismos de ação, o efeito dos exsudatos na comunidade nitrificante, além da investigação de diferentes espécies de plantas com potencial inibitório. Em um desses estudos, Simon et al., (2019) avaliaram o potencial da braquiária humidicola e do capim áries (*Panicum maximum*), e observaram que os fluxos de N_2O em manchas de urina foram menores na braquiária do que no capim áries, com uma redução de 20% nas emissões cumulativas e no FE de N_2O .

Considerando o potencial que algumas espécies de brássicas têm em inibir a nitrificação do solo e contribuir para a mitigação das emissões de N_2O , identifica-se a interessante oportunidade de pesquisar se o nabo forrageiro (*Raphanus sativus* L.) também tem esse potencial. Isso é particularmente relevante nos sistemas agrícolas no Sul do Brasil, onde o nabo forrageiro é amplamente cultivado como planta de cobertura do solo no inverno, promovendo melhorias na estrutura do solo e na reciclagem de nutrientes (Crusciol et al., 2005; Lima et al., 2007; Reinert et al., 2008). Além do nabo como uma espécie de cobertura, os sistemas baseados em pastagens anuais de inverno no sul do Brasil são amplamente cultivados com aveia preta (*Avena strigosa* L.), tanto para o pastejo de bovinos de leite ou de corte (Lopes et al., 2009; Anghinoni et al., 2013; Ziech et al., 2015). O fato de o consórcio do nabo forrageiro com aveia preta ser possível, levanta, portanto, a possibilidade do

emprego do nabo forrageiro para mitigar as emissões de N_2O a partir da urina de bovinos nessas pastagens.

1.1 HIPÓTESES

- Nabo forrageiro em consórcio com a pastagem de aveia preta mitiga as emissões diretas de N_2O a partir da urina bovina depositada em um solo de clima subtropical, possivelmente pela liberação de exsudatos radiculares que atuam sobre a inibição da nitrificação do solo.
- Fator de emissão direta de N_2O a partir de urina bovina depositada em pastos de aveia preta contendo proporções de nabo forrageiro é menor do que a taxa de 2% estimada pelo IPCC para dejetos animais depositado em pastagens.

1.2 OBJETIVOS

- Avaliar a capacidade do nabo forrageiro consorciado em diferentes proporções com a pastagem de aveia preta em mitigar as emissões diretas de N_2O a partir de urina bovina.
- Avaliar a magnitude do fator de emissão de N_2O a partir de urina bovina depositada em solo de pastagem de aveia preta contendo proporções de nabo forrageiro.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Área experimental

O experimento de campo foi conduzido na Fazenda Experimental Canguiri, pertencente à Universidade Federal do Paraná (UFPR), situada no município de Pinhais – PR. A área está localizada nas coordenadas 25° 23' 41" sul e 49° 07' 45" oeste, com 910 metros de altitude. O clima da região é classificado como subtropical úmido mesotérmico (Cfb, Köppen), com ausência de estação seca, verões frescos e invernos com temperaturas mais baixas (Alvares, 2013). A temperatura média no mês mais quente é de 26,6 °C (janeiro) e no mês mais frio 9,8 °C (junho), com precipitação média anual de 1500 mm (Simepar, 2017). De acordo com o Sistema Brasileiro de Classificação de Solos (SiBCS), o solo da área é classificado como Cambissolo Háplico (Santos et al., 2018) com as seguintes características amostradas na camada de 0 – 15 cm em janeiro de 2020: 439 g kg⁻¹ de argila, pH CaCl₂ 4,9; 4,6 % de MO; 54% de saturação por bases; * 5,3 cmolc dm⁻³ Ca⁺²; * 0,20 cmolc dm⁻³ de K⁺; * 2,2 cmolc dm⁻³ de Mg (* extrator KCl 1,0 mol L⁻¹); 6,4 mg dm⁻³ de P (extrator Melich⁻¹); ; 6,4 cmolc dm⁻³ de H⁺ + Al³⁺.

A área do experimento estava em pousio há cerca de dois anos. Nesse período, a vegetação foi composta predominantemente por vassourinha (*Baccharis dracunculifolia*), carqueja (*Baccharis trimera*), picão-preto (*Bidens pilosa*) e tiririca (*Cyperus* spp.). O preparo inicial da área foi realizado através de uma roçada mecanizada para remoção da vegetação mais densa, seguido por uma roçada com máquina costal para rebaixar a vegetação o mais próximo da superfície do solo. Em seguida, os blocos foram dimensionados e marcados com estacas, e as linhas de semeadura foram demarcadas por uma semeadoura.

2.2 Tratamentos e delineamento experimental

Os tratamentos consistiram em cinco proporções de nabo forrageiro (*Raphanus sativus* L.) consorciado com pastagem de aveia preta (*Avena strigosa* Schreb.) no inverno:

- P0, sem nabo forrageiro, 100% aveia preta;
- P15, proporção de 15% de nabo forrageiro e 85% de aveia preta;

- P30, proporção de 30% de nabo forrageiro e 70% de aveia preta;
- P60, proporção de 60% de nabo forrageiro e 40% de aveia preta;
- P100, proporção de 100% de nabo forrageiro, sem aveia preta.

As proporções foram obtidas por diferentes densidades de semeadura de aveia preta e de nabo forrageiro. No tratamento P0 foi usado 100% da dose recomendada de semente para aveia preta (80 kg ha⁻¹); enquanto no tratamento P100 foi usado 100% da dose recomendada de semente para nabo forrageiro (20 kg ha⁻¹). Em P15 foi usado 15% da dose de semente recomendada para nabo forrageiro e 85% da dose de semente recomendada para aveia preta (3 kg ha⁻¹ de nabo forrageiro e 68 kg ha⁻¹ de aveia preta); e este mesmo procedimento foi usado para se obter as proporções P30 e P60.

O potencial germinativo das sementes foi considerado nestas proporções e para isso as sementes foram analisadas no Laboratório de Tecnologia de Sementes da UFPR. As sementes de aveia foram separadas em três lotes de 50 sementes, sendo distribuídas sobre duas folhas de papel germitest umedecidas com quantidade de água equivalente a 2,5 vezes a massa do papel não hidratado, coberto com uma terceira folha e, em seguida, confeccionados em forma de rolos e mantidos em câmara de germinação por 72 horas; enquanto que as sementes de nabo foram separadas em quatro lotes de 30 sementes, seguindo o mesmo protocolo da aveia, porém, posicionadas no interior de caixas gerbox.

O delineamento experimental foi blocos ao acaso, com quatro repetições, em esquema de parcelas subdivididas. As parcelas apresentavam dimensão de 4 × 3 m, totalizando 12 m² por unidade, e 240 m² de área total. No interior de cada parcela, houve a divisão de uma microparcela, com dimensões de 0,728 m², para delimitar o tratamento controle, isto é, sem aplicação do dejetos. A semeadura das cultivares IPR 115 (nabo forrageiro) e Embrapa 139 (aveia preta) foi realizada manualmente no dia 08 de agosto de 2019, em um espaçamento de 17 cm entre linhas, sem adubação de base.

Aos 60 dias após a emergência das plantas, quando estas estavam com uma altura média de 32 cm, foi realizado um pastejo simulado. O corte foi realizado com auxílio de uma roçadeira manual, de modo que o residual da pastagem permanecesse com altura média de 15 cm, caracterizando um sistema de pastejo moderado, sendo que o resíduo cortado foi removido da parcela. O controle das

plantas daninhas foi realizado manualmente, quando constatado a necessidade, e o controle de pragas foi realizado com aplicação de óleo de neem (*Azadirachta indica*).

2.3 Coleta, caracterização e aplicação de urina bovina

A urina foi coletada em um lote de 35 vacas leiteiras da raça Holandesa, em plena lactação. Os animais estavam sendo conduzidos em sistema de pastejo rotacional, em pastos de aveia preta, e com suplementação no cocho, onde eram fornecidos 1,125 kg/animal de concentrado (ração) antecedendo as ordenhas da manhã e da tarde, além de 17,5 kg/animal/dia de volumoso (silagem de milho) misturada com 3 kg/animal/dia de concentrado. A coleta de urina foi no dia 08 Out 2019, iniciando às 5:00 h da manhã, antecedendo a primeira ordenha do dia (por volta das 06h 30min), quando as vacas ainda estavam no pasto. A urina foi coletada em baldes plásticos, previamente higienizados, e o volume coletado foi filtrado e transferido para tambores maiores (40 litros) para homogeneização e quantificação. Com base no número de animais e no volume coletado, determinou-se a média de urinada por animal, totalizando 2,2 litros.

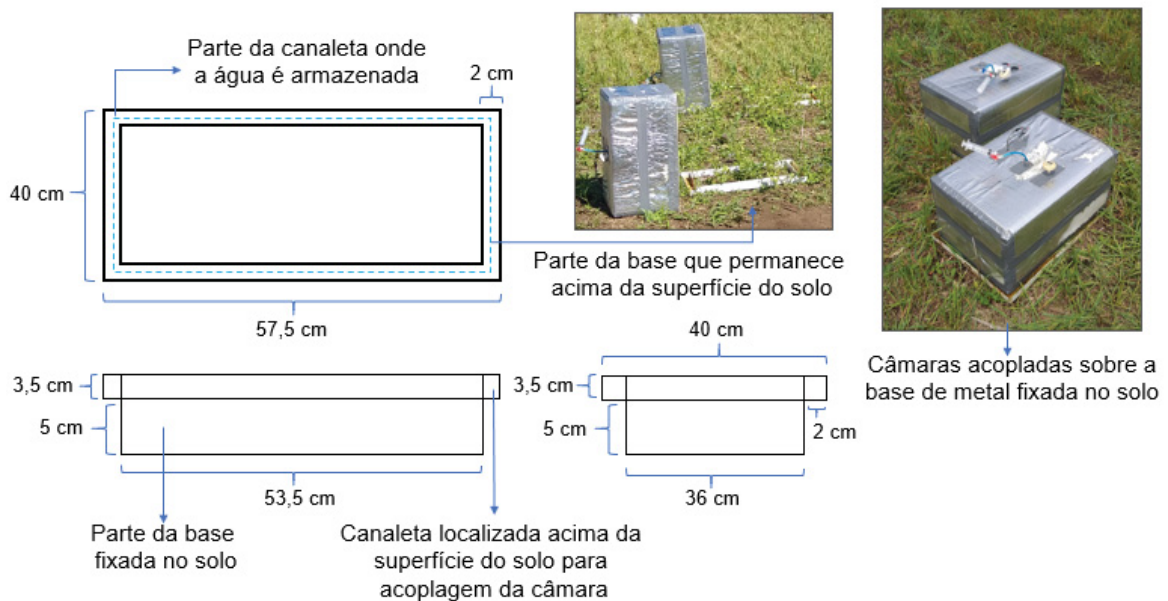
Uma alíquota de urina foi separada para determinar a concentração de N total, utilizando a metodologia de Kjeldahl. O método consiste na digestão de 10 mL da amostra de urina, 7,5 mL de H₂SO₄ e 0,5 g de sulfato de cobre e potássio (catalisador da reação). Logo após a digestão, as amostras foram transferidas para um balão volumétrico de 100 mL, onde iniciou-se o processo de destilação, com a adição de 25 mL de extrato e 30 mL de NaOH (32%). No processo de destilação foram capturados 50 mL do destilado em um erlenmeyer previamente preparado com uma solução de 20 mL de H₂SO₄ (0,02 M) e indicador fenolftaleína. A titulação foi realizada com NaOH 0,02 M, e resultou na concentração de 0,63% N/mL.

Na manhã do mesmo dia da coleta da urina, esta foi aplicada manualmente sobre o solo em uma microparcela de 34 x 53,5 cm (0,1819 m²) no interior de cada parcela. A microparcela era delimitada por uma base de metal com as mesmas dimensões, e ancorada ao solo, que serviu também como suporte para a acoplagem das câmaras de coleta durante os eventos de amostragem de ar. O volume aplicado em cada microparcela foi de 2L, com um regador a uma altura de aproximadamente 0,50 m do solo. Uma segunda microparcela e base metálica com as mesmas dimensões foi instalada como condição controle, sem aplicação de urina.

2.4 Amostragem de ar do solo para quantificação dos fluxos de N₂O

A amostragem de ar foi realizada pelo método de câmaras estáticas descritas por Mosier (1989) e Parkin et al. (2003). As câmaras foram compostas por caixas de PVC, recobertas com uma manta isotérmica de alumínio, com dimensões de 34 cm de largura, 53,5 cm de comprimento e 31,4 cm de altura. Em cada evento de amostragem de ar, as câmaras foram acopladas sobre as bases de metal fixadas no solo e a vedação foi realizada com a adição de água nas canaletas laterais das bases (Figura 1).

FIGURA 1. REPRESENTAÇÃO DA BASE DE METAL UTILIZADA PARA ACOPLAGEM DAS CÂMARAS DE COLETA DE AR E SUAS DIMENSÕES. PINHAIS – PARANÁ, 2019.



FONTE: O autor (2019)

(Adaptado de Bruno J. R. Alves)

As câmaras foram equipadas com um termômetro digital, utilizado para monitorar a temperatura interna durante a amostragem, dois ventiladores de 12 V fixados nas laterais internas da câmara para homogeneização do ar, e uma saída de válvula na parte superior da câmara para conectar a seringa coletora de ar. Os acessórios foram fixados na câmara com borrachas de vedação, e após cada evento de amostragem, as câmaras foram removidas cuidadosamente, mantendo as bases intactas no solo.

Cada evento de coleta iniciou as 9:00 horas, quando a câmara foi acoplada sobre a base. Amostras de ar foram retiradas em intervalos de 15 minutos, aos 0, 15, 30 e 45 minutos após o acoplamento da câmara. Para homogeneização do ar no interior da câmara, o ventilador era acionado por aproximadamente 10 segundos antes de cada tempo de coleta, exceto no tempo 0. A amostra de ar foi retirada com seringas de polipropileno (20 mL) equipadas com uma válvula na ponteira, permitindo que o gás coletado fosse transferido diretamente para frascos evacuados (Exetainer®, Labco, UK). As coletas iniciaram no dia 08 Out 2019 e ocorreram aos 0, 1, 3, 7, 10, 14, 20, 30, 51 e 71 dias após aplicação da urina, até 18 Dez 2019, quando a cultura da aveia entrou em senescência plena e os teores de N inorgânico do solo retornaram aos seus níveis basais.

As amostras de ar foram analisadas por cromatografia gasosa em equipamento GC – Shimadzu 14-A, pertencente ao Laboratório de Biogeoquímica Ambiental da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). O cromatógrafo estava equipado com detector de ionização de chama (FID) para determinação da concentração de CH₄ e um detector de captura de elétrons (ECD) para determinação da concentração de N₂O.

A concentração de gás na câmara foi calculada pela multiplicação da concentração de gases emitidos no intervalo de 45 minutos pelo volume interno da câmara. A partir da concentração do gás por unidade de volume (área da câmara), da temperatura interna da câmara em graus Kelvin, pressão atmosférica de 1 atm, e da constante universal dos gases (0,08206), foi calculado o número de mols de N₂O. A concentração final foi obtida pela multiplicação do número de mols pela massa de cada molécula de gás, o que permitiu visualizar o incremento linear das concentrações de gases na câmara. O coeficiente angular da equação descreve esse incremento nas concentrações, e corresponde à taxa de emissão do gás (ppm min⁻¹ ou ppb min⁻¹).

A emissão diária foi obtida pela transformação dos fluxos no intervalo entre a montagem da câmara (tempo 0) e a última coleta (45 minutos), para minutos e posteriormente pela duração do dia, resultando na emissão em µg m⁻² h⁻¹ (concentração de gás emitido por unidade de área e por unidade de tempo). Os fluxos de N-N₂O foram determinados pela equação proposta por Barton (2008).

$$FN = \left(\frac{\delta C}{\delta t} \times \frac{V}{A} \times \frac{M}{Vm} \right) \quad (\text{equação 1})$$

Sendo:

- FN – Fluxo de N₂O (μ N – N₂O m⁻² h⁻¹);
- δC/δt: variação de concentração de N₂O na câmara no intervalo de medição (mol mol⁻¹ h⁻¹);
- V – Volume da câmara (m³);
- A – Área ocupada pela câmara no solo (m²);
- M – Peso molecular do N₂O;
- Vm – Volume molar do gás nas condições normais de temperatura e pressão (g mol⁻¹);

A emissão acumulada de N₂O (mg N-N₂O m⁻²) foi calculada a partir da interpolação linear dos valores de emissão de N₂O emitidos em cada evento de amostragem (Bayer et al., 2015; Simon et al., 2018) ao longo dos 71 dias de avaliação. A interpolação utiliza as taxas de emissão ao longo do tempo para integrar valores de referência nos períodos intermediários, compreendidos entre uma coleta e outra. O fator de emissão (FE) foi calculado pela diferença entre a emissão acumulada de N₂O do dejetos (urina) e a emissão acumulada de N₂O do tratamento controle, em relação a concentração de N presente na urina, conforme descrito na equação 2.

$$FE (\%) = \left(\frac{N_2O_{total} \text{ (urina)} - N_2O_{total} \text{ (solo sem urina)}}{N \text{ aplicado na forma de urina}} \right) \times 100 \quad (\text{equação 2})$$

Sendo:

- N₂O_(urina) – Emissão acumulada de N-N₂O do tratamento com aplicação de urina do período de avaliação (kg N ha⁻¹);
- N₂O_(solo sem urina) – N-N₂O acumulado durante o ciclo de avaliação para o tratamento controle (g m⁻²);
- N aplicado_(na forma de urina) – Quantidade de N aplicado via urina (g m⁻²);

2.5 Atributos do solo

2.5.1 Concentração de nitrogênio inorgânico (N-NH₄⁺ e N-NO₃⁻)

Durante a amostragem de ar, foram coletadas amostras de solo para determinar as concentrações de N inorgânico. Essas coletas foram realizadas em uma outra microparcela que também recebeu urina, e que tinha dimensões semelhantes à microparcela de avaliação de gases, porém estava a uma distância de 50 cm destas. As coletas de solo foram realizadas em triplicatas, com auxílio de um trado calador, a 5 cm de profundidade, sendo posteriormente homogeneizadas para obtenção de uma amostra de solo composta, de aproximadamente 50 gramas. Do total de solo obtido, uma alíquota de 5 g foi pesada e extraída com solução de KCl 2 mol L⁻¹. As concentrações de NH₄⁺ e NO₃⁻ foram determinadas por espectrofotometria em sistema de análise por injeção de fluxo (FIA), utilizando o método do salicilato e da coluna de cádmio, respectivamente (Hambridge, 2007a, 2007 b).

As intensidades de NH₄⁺ e NO₃⁻ foram calculadas a partir da interpolação linear dos valores de concentração obtidos em cada coleta ao longo de 71 dias. A interpolação permite que as concentrações de cada coleta individual sejam integralizadas em concentrações intermediárias, definidas pelo intervalo entre uma coleta e outra, e com isso, foi possível verificar os tratamentos com maior intensidade de NH₄⁺ e NO₃⁻, durante o período. Além disso, foi calculada a taxa de variação na concentração de nitrato (Δ N-NO₃⁻), por meio da diferença de concentração de NO₃⁻ entre uma coleta e sua anterior, em relação ao intervalo de dias entre as coletas, determinando a proporção de NO₃⁻ que estava sendo nitrificado em cada intervalo de tempo.

2.5.2 Densidade do solo

A avaliação da densidade do solo ocorreu no dia 07/01/2020, cerca de 20 dias após a última amostragem de ar, pelo método do anel volumétrico. O procedimento consistiu na coleta de três amostras indeformadas de solo na camada de 0 a 5 cm em cada parcela. Os anéis foram preparados (toalete) e submetidos em estufa a 105

°C até obter peso constante. A determinação foi realizada pela divisão do peso seco da amostra pelo volume do cilindro.

2.5.3 Porosidade preenchida por água (PPA)

Da mesma amostra de solo coletada para determinar os teores de nitrogênio inorgânico, foi retirada uma alíquota de 20 gramas de solo para determinar a umidade gravimétrica do solo, a partir da pesagem do solo úmido, seguido pela secagem das amostras a 105 °C em estufa de circulação forçada, até obter peso constante, conforme Embrapa (1997). Com base nos valores de umidade gravimétrica, densidade de partículas ($\sigma_p = 2,65 \text{ kg dm}^{-3}$) (Simon et al., 2018) e a densidade aparente do solo, foi calculada a porosidade preenchida por água, conforme descrito na equação 3:

$$\text{PPA (\%)} = \left(\frac{\left(\frac{\theta_g}{100} \right) \times \sigma_s}{\left(1 - \frac{\sigma_s}{\sigma_p} \right)} \times 100 \right)$$

Sendo:

- θ_g – Umidade gravimétrica do solo;
- σ_s – Densidade aparente do solo (determinada por anel volumétrico);
- σ_p – Densidade de partículas;

A média ponderada da porosidade preenchida por água foi calculada pela interpolação linear dos valores totais de PPA obtidos em cada coleta ao longo de 71 dias.

2.5.4 Parâmetros meteorológicos

As informações meteorológicas de precipitação diária e temperatura média diária foram obtidas em uma estação meteorológica localizada no Núcleo de Inovação Tecnológica em Agropecuária (NITA), localizada cerca de 850 metros do experimento.

2.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

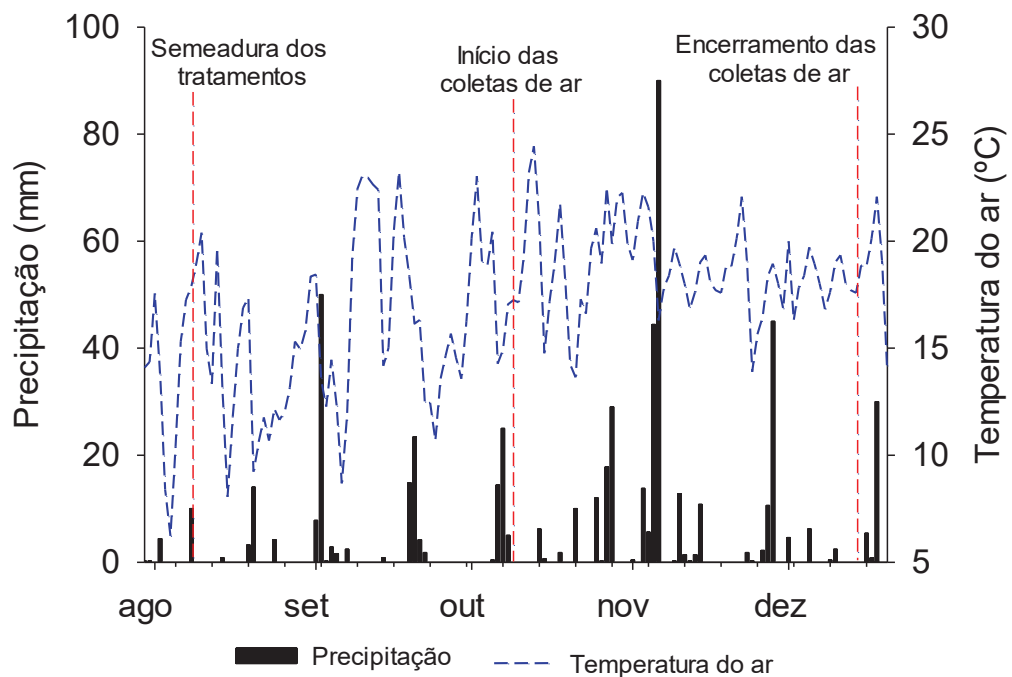
Os dados foram submetidos ao teste de normalidade (Shapiro-Wilk) e homogeneidade das variâncias (Bartlett), e os tratamentos foram comparados entre si pela análise de regressão ($p < 0,05$). As análises estatísticas foram realizadas no programa estatístico R Studio, com a utilização dos pacotes Agricolae e MASS.

3 RESULTADOS

3.1 Precipitação pluviométrica e temperatura do ar

A precipitação mensal foi maior no mês de novembro, com 241 mm, seguido pelos meses de outubro, com 122 mm e setembro com 110 mm, sendo que a menor precipitação acumulada ocorreu no mês de agosto, com 27 mm (Figura 2). A temperatura média diária foi maior nos meses de outubro e novembro, com 18,9 e 18,5 °C, respectivamente, sendo que o mês de agosto foi definido por temperaturas mais baixas, em torno de 13,9 °C.

FIGURA 2. PRECIPITAÇÃO (BARRAS, mm) E TEMPERATURA MÉDIA DIÁRIA DO AR (LINHA TRACEJADA, C°) DURANTE O PERÍODO DE 30/07/2019 A 21/12/2019. PINHAIS – PARANÁ, 2019.



FONTE: Estação meteorológica digital localizada junto ao Núcleo de Inovação Tecnológica em Agropecuária (NITA).

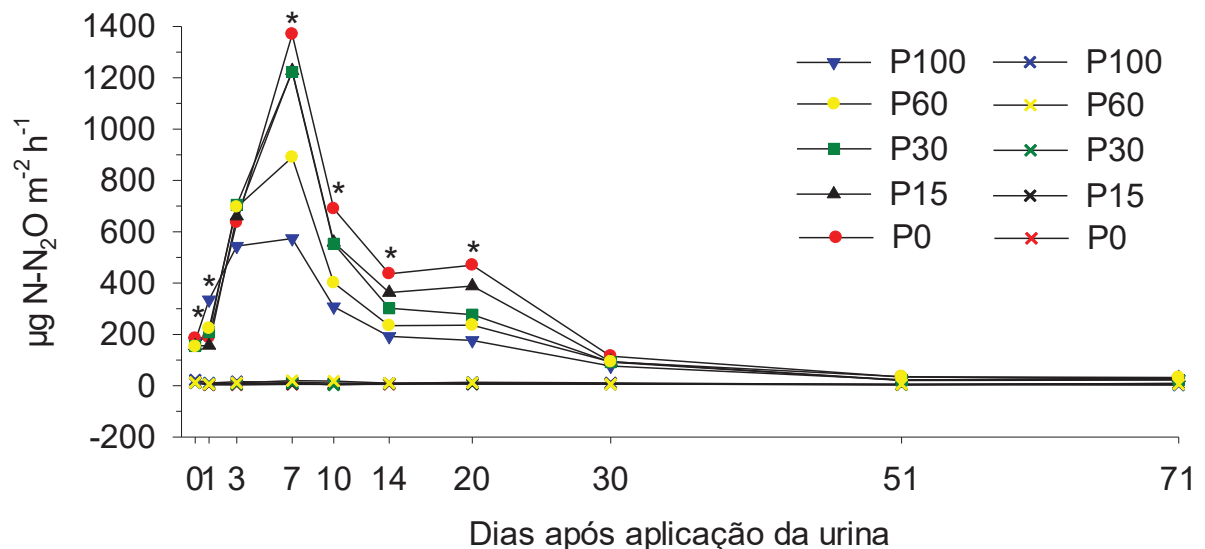
3.2 Fluxos de N₂O a partir de manchas de urina

Os fluxos de N₂O aumentaram constantemente após a aplicação da urina, atingindo o pico de emissão 7 dias após aplicação, e retornando aos níveis de emissão basal em aproximadamente 58 dias (Figura 3). Nesse pico, os fluxos de N₂O foram mais baixos nos tratamentos P100 e P60, com 573 e 890 µg N-N₂O m² h⁻¹

¹, respectivamente, o que resultou em uma redução de 58% (P100) e 35% (P60) nos fluxos de N₂O em relação ao tratamento P0, que apresentou a maior emissão, com 1370 µg N-N₂O m² h⁻¹. Além disso, os tratamentos P15 e P30 também apresentaram fluxos elevados durante o pico, com 1227 e 1222 µg N-N₂O m² h⁻¹, respectivamente.

O efeito das proporções de nabo forrageiro em atuar na mitigação das emissões de N₂O foi observado de maneira mais clara até os 20 dias após aplicação da urina, sendo que a partir dos 30 dias, todos os tratamentos apresentaram fluxos semelhantes ao P0 (94 ± 3,42 µg N-N₂O m² h⁻¹). A emissão dos tratamentos controle foi baixa ao longo de todo período de avaliação, sendo inferior a 15 ± 0,63 µg N-N₂O m² h⁻¹.

FIGURA 3. FLUXO DE ÓXIDO NITROSO DE MANCHAS DE URINA EM PASTOS DE AVEIA PRETA CONTENDO PROPORÇÕES DE NABO FORRAGEIRO DE 0% (P0), 15% (P15), 30% (P30), 60% (P60) E 100% (P100). OS ENSAIOS INCLUÍRAM TRATAMENTOS CONTROLE, REPRESENTADOS NO GRÁFICO PELO "X" DA COR DO RESPECTIVO TRATAMENTO. PINHAIS - PARANÁ, 2019.



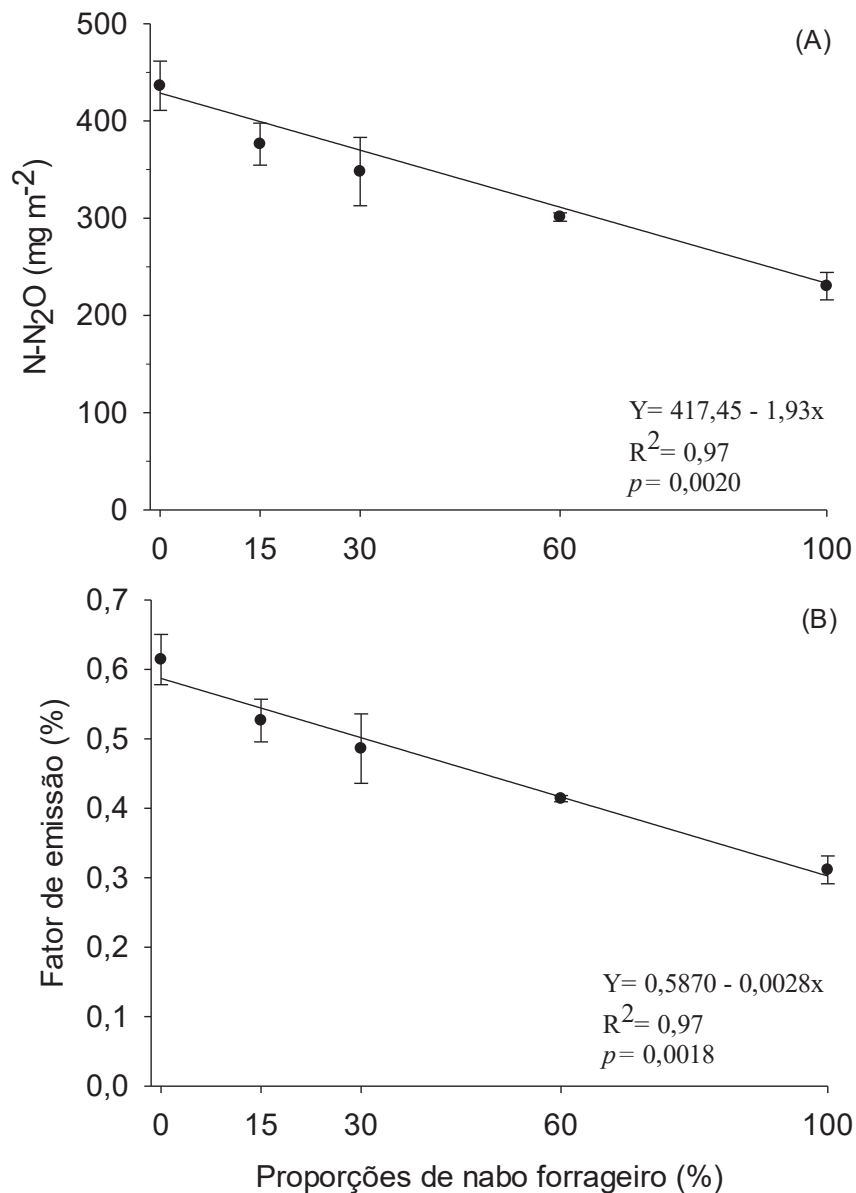
FONTE: O autor (2019)

LEGENDA: Asteriscos indicam a significância entre os tratamentos, de acordo com as regressões ($p < 0,05$; tabela 1, material suplementar).

A emissão acumulada de N₂O e o fator de emissão (FE%) apresentaram uma redução linear com o aumento das proporções de nabo forrageiro (Figura 4A e 4B). O tratamento P100 reduziu as emissões acumuladas em 47% (230 mg m⁻² N-N₂O) e o FE em 49% (0,31%), em relação ao tratamento P0, cuja emissão acumulada foi 436 mg m⁻² N-N₂O e o FE de 0,61%. Além disso, também ocorreram reduções

consideráveis de 31%, 20% e 14% nas emissões acumuladas dos tratamentos P60 (301 mg m⁻² N-N₂O), P30 (348 mg m⁻² N-N₂O) e P15 (376 mg m⁻² N-N₂O), respectivamente. A equação gerada pela regressão demonstrou que para cada 1% de nabo forrageiro no consórcio, há uma redução de 1,93 mg m⁻² N-N₂O, que deixa de ser emitido para a atmosfera.

FIGURA 4. EMISSÃO ACUMULADA DE OXIDO NITROSO (A) E FATOR DE EMISSÃO (B) DE MANCHAS DE URINA EM PASTOS DE AVEIA PRETA CONTENDO PROPORÇÕES DE NABO FORRAGEIRO DE 0% (P0), 15% (P15), 30% (P30), 60% (P60) E 100% (P100). PERÍODO DE AVALIAÇÃO FOI 71 DIAS APÓS APLICAÇÃO DA URINA. (P<0.05). PINHAIS - PARANÁ, 2019.



FONTE: O autor (2019)

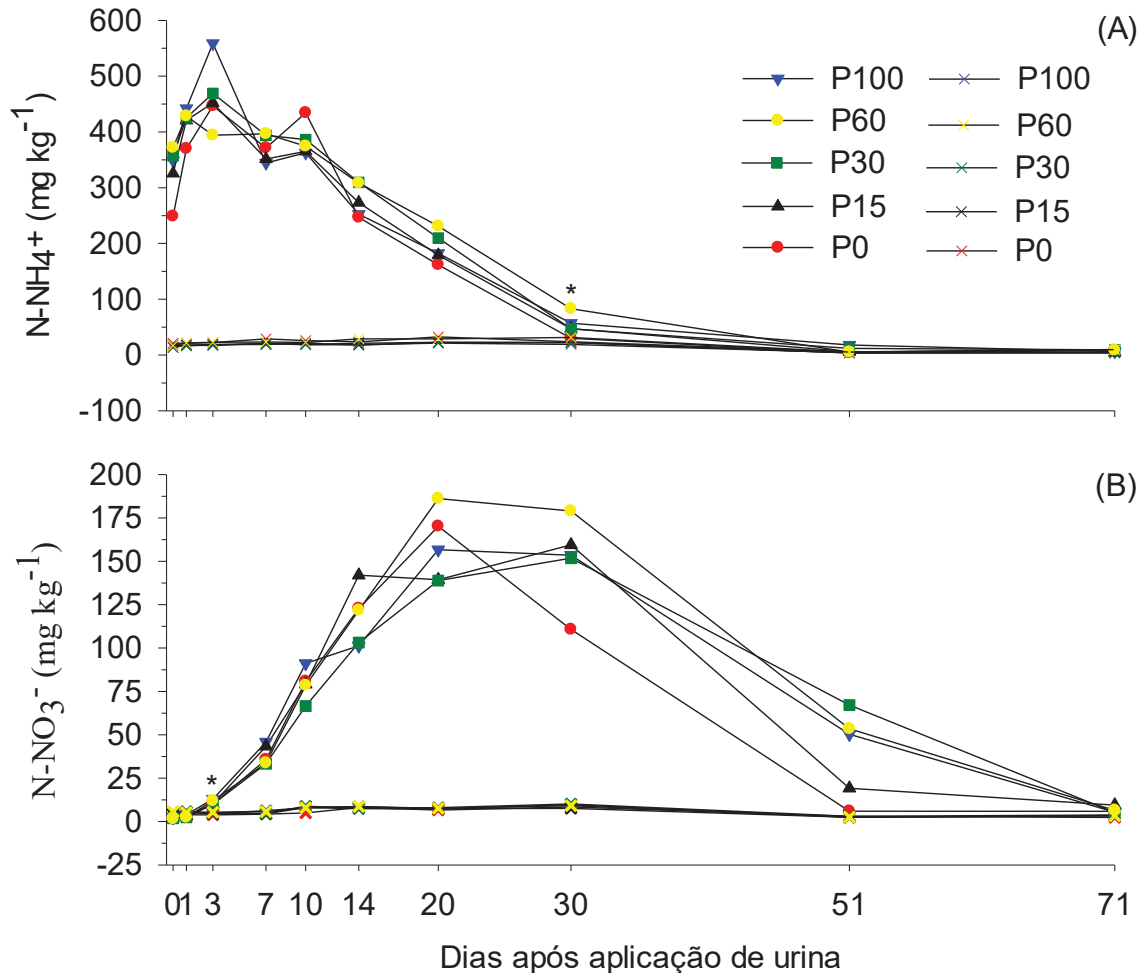
LEGENDA: Linhas verticais representam o erro padrão.

3.3 Concentrações de NH_4^+ e NO_3^- do solo

As concentrações de NH_4^+ do solo foram mais altas após a aplicação da urina, mas tiveram um declínio cerca de 3 dias após a aplicação, que se estendeu até os 50 dias quando os tratamentos apresentaram concentrações semelhantes ao controle (18 mg N kg^{-1}) (Figura 5A). A concentração mais alta foi no tratamento P100 com 558 mg N kg^{-1} , seguido pelo P30, com 469 mg N kg^{-1} , enquanto que os tratamentos P15 e P0 apresentaram concentrações mais baixas, e valores próximos a 450 mg N kg^{-1} . O tratamento P60 teve sua maior concentração de NH_4^+ um dia após a aplicação da urina, com 428 mg N kg^{-1} .

As concentrações de NO_3^- foram baixas após a aplicação da urina, e tiveram um aumento aos 3 dias, o que de fato coincidiu com a redução nas concentrações de NH_4^+ (Figura 5B). As concentrações mais altas foram no intervalo entre 20 e 30 dias após a aplicação da urina, com tendência de ser maior no tratamento P100 ($\sim 156 \text{ mg N kg}^{-1}$) e P60 (186 mg N kg^{-1}) (aos 20 dias). Após 30 dias, as concentrações de NO_3^- foram diminuindo para valores próximos aos tratamentos controle, aos 71 dias, sendo que o tratamento P0 teve sua redução a partir dos 20 dias. Em todo período experimental, as concentrações de NH_4^+ foram maiores do que as concentrações de NO_3^- .

FIGURA 5. CONCENTRAÇÃO DE AMÔNIO (A) E NITRATO (B), DE 0 A 5 CM DE PROFUNDIDADE DO SOLO EM PASTOS DE AVEIA PRETA CONTENDO PROPORÇÕES DE NABO FORRAGEIRO DE 0% (P0), 15% (P15), 30% (P30), 60% (P60) E 100% (P100). ($P < 0.05$). OS ENSAIOS INCLUÍRAM TRATAMENTOS CONTROLE, REPRESENTADOS NO GRÁFICO PELA LETRA "X" DA COR DO RESPECTIVO TRATAMENTO. PINHAIS - PARANÁ, 2019.



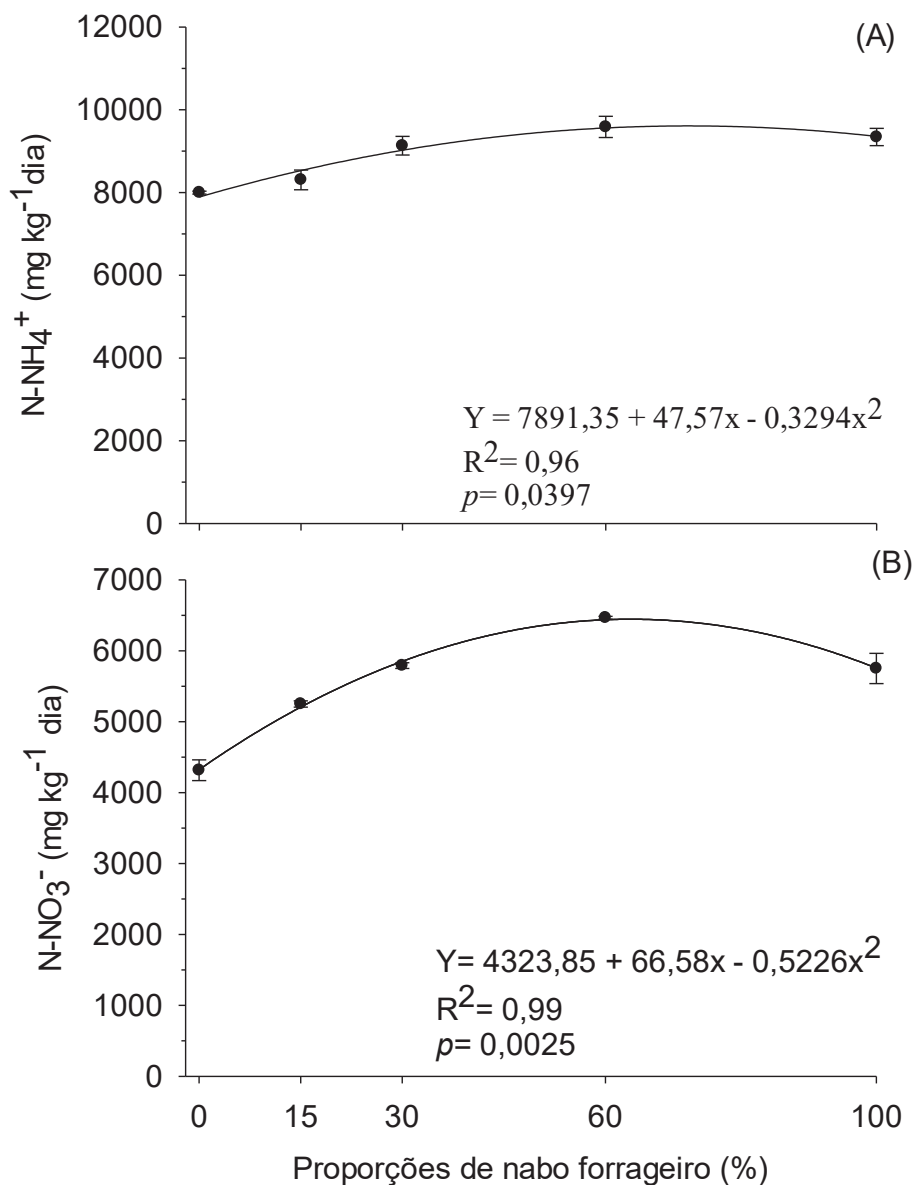
FONTE: O autor (2019)

LEGENDA: Asteriscos indicam a significância entre os tratamentos, de acordo com as regressões ($p < 0.05$; tabela 3, material suplementar).

As proporções de nabo forrageiro influenciaram as intensidades de NH₄⁺ e NO₃⁻ do solo, sendo que as intensidades de NH₄⁺ foram mais baixas em P0, com 7997 mg N kg⁻¹ e aumentaram constantemente com o aumento das proporções de nabo até o tratamento P60, com 9584 mg N kg⁻¹ (Figura 6A), resultando em um aumento de 16,5% na intensidade, seguido por um posterior decréscimo de 2,5% em P100 (9341 mg N kg⁻¹).

As intensidades de NO_3^- também foram mais baixas em P0, com 4316 mg N kg^{-1} e aumentaram constantemente até atingir a maior intensidade em P60, com 6466 mg N kg^{-1} (Figura 6B), o que promoveu um incremento de 33% nas intensidades de NO_3^- , seguido por uma redução de 11% em P100 (5750 mg N kg^{-1}).

FIGURA 6. INTENSIDADE DE AMÔNIO (A) E NITRATO (B) DO SOLO AMOSTRADO NA CAMADA DE 0 A 5 CM EM PASTOS DE AVEIA PRETA CONTENDO PROPORÇÕES DE NABO FORRAGEIRO DE 0% (P0), 15% (P15), 30% (P30), 60% (P60) E 100% (P100). PERÍODO DE AVALIAÇÃO FOI 71 DIAS APÓS APLICAÇÃO DA URINA. PINHAIS - PARANÁ, 2019.

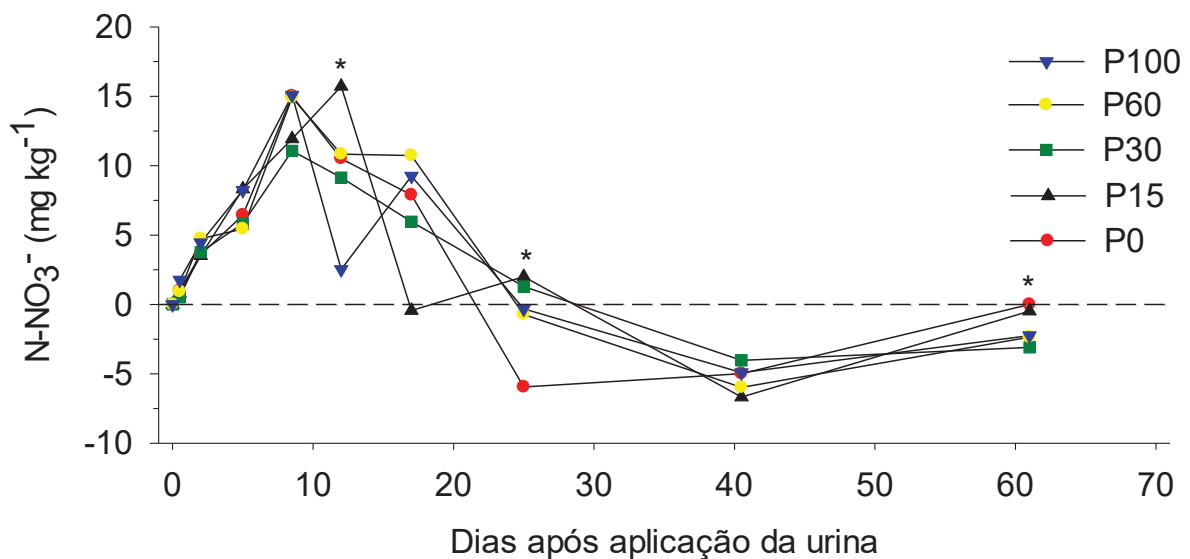


FONTE: O autor (2019).

LEGENDA: Barras verticais representam o erro padrão. ($p < 0,05$).

As taxas de variação nas concentrações de nitrato foram baixas após a aplicação da urina no solo, mas aumentaram consideravelmente após 3 dias, com tendência de maiores taxas de nitrificação entre os dias 7 e 14, nos tratamentos P100, P60, P15 e P0, com taxas variando de 14,9 (P60) a 15,7 (P15) mg N kg⁻¹ (Figura 7). O aumento nas taxas de nitrificação coincidiu com a redução nas concentrações de NH₄⁺ e o aumento nas concentrações de NO₃⁻ (Figura 5A e 5B), sendo que as taxas entraram em declínio após a maior parte do NH₄⁺ ter sido consumido. Aproximadamente 27 dias após a aplicação da urina, as taxas atingiram valores negativos de nitrificação.

FIGURA 7. TAXA DE VARIAÇÃO NA CONCENTRAÇÃO DE NITRATO (Δ N-NO₃⁻) NO SOLO EM PASTOS DE AVEIA PRETA CONTENDO PROPORÇÕES DE NABO FORRAGEIRO DE 0% (P0), 15% (P15), 30% (P30), 60% (P60) E 100% (P100). PERÍODO DE AVALIAÇÃO FOI 71 DIAS APÓS APLICAÇÃO DA URINA. PINHAIS - PARANÁ, 2019.

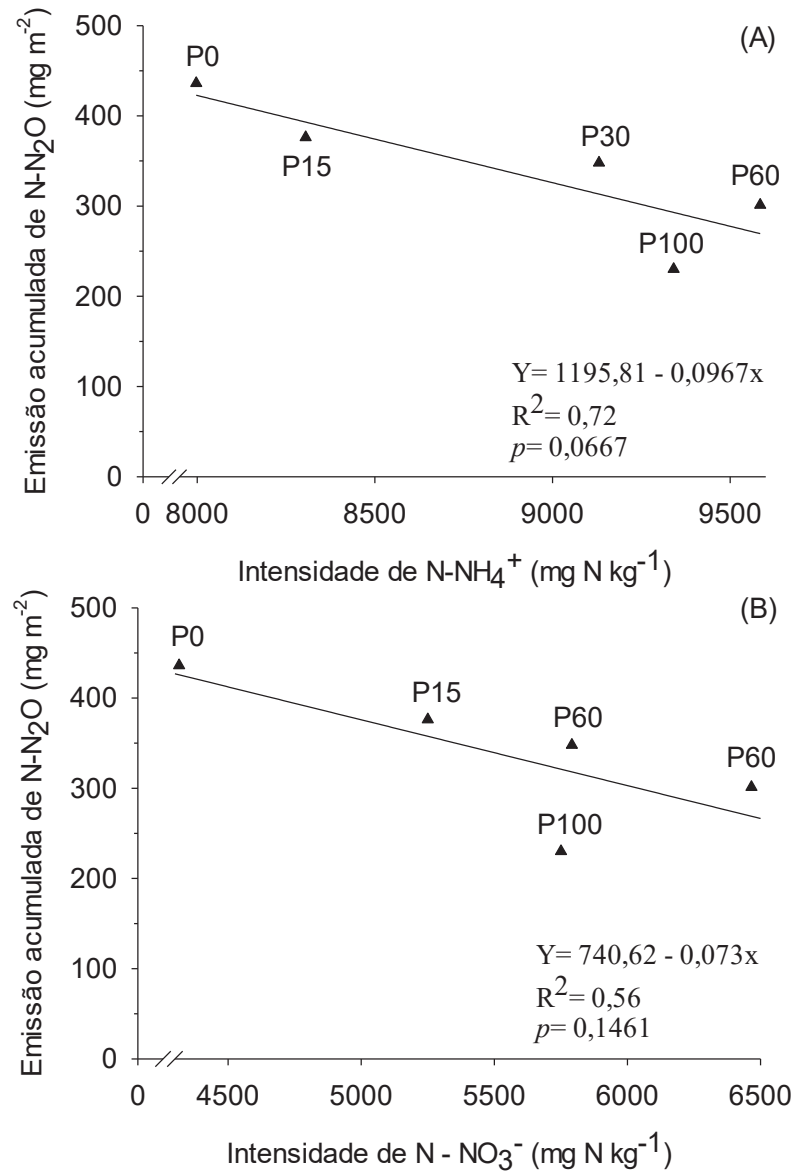


FONTE: O autor (2019)

LEGENDA: Asteriscos indicam a significância entre os tratamentos, de acordo com as regressões ($p < 0,05$; tabela 3, material suplementar).

A relação entre a emissão acumulada de N₂O e as intensidades de NH₄⁺ e NO₃⁻ do solo foi significativa apenas para a intensidade de NH₄⁺ ($R^2 = 0,72$) (Figura 8A), mas não foi para a relação entre o acumulado de N₂O e as intensidades de NO₃⁻ ($R^2 = 0,56$) (Figura 8B). Em ambas as relações, o aumento das proporções de nabo em consórcio com a aveia apresentou redução linear nas emissões acumuladas e nas intensidades de N-inorgânico.

FIGURA 8. RELAÇÃO ENTRE O ACUMULADO DE ÓXIDO NITROSO (N_2O) E AS INTENSIDADES DE AMÔNIO (7A) E NITRATO (7B) EM PASTOS DE AVEIA PRETA CONTENDO PROPORÇÕES DE NABO FORRAGEIRO DE 0% (P0), 15% (P15), 30% (P30), 60% (P60) E 100% (P100). PERÍODO DE AVALIAÇÃO FOI 71 DIAS APÓS APLICAÇÃO DA URINA. PINHAIS - PARANÁ, 2019.



FONTE: O autor (2019)

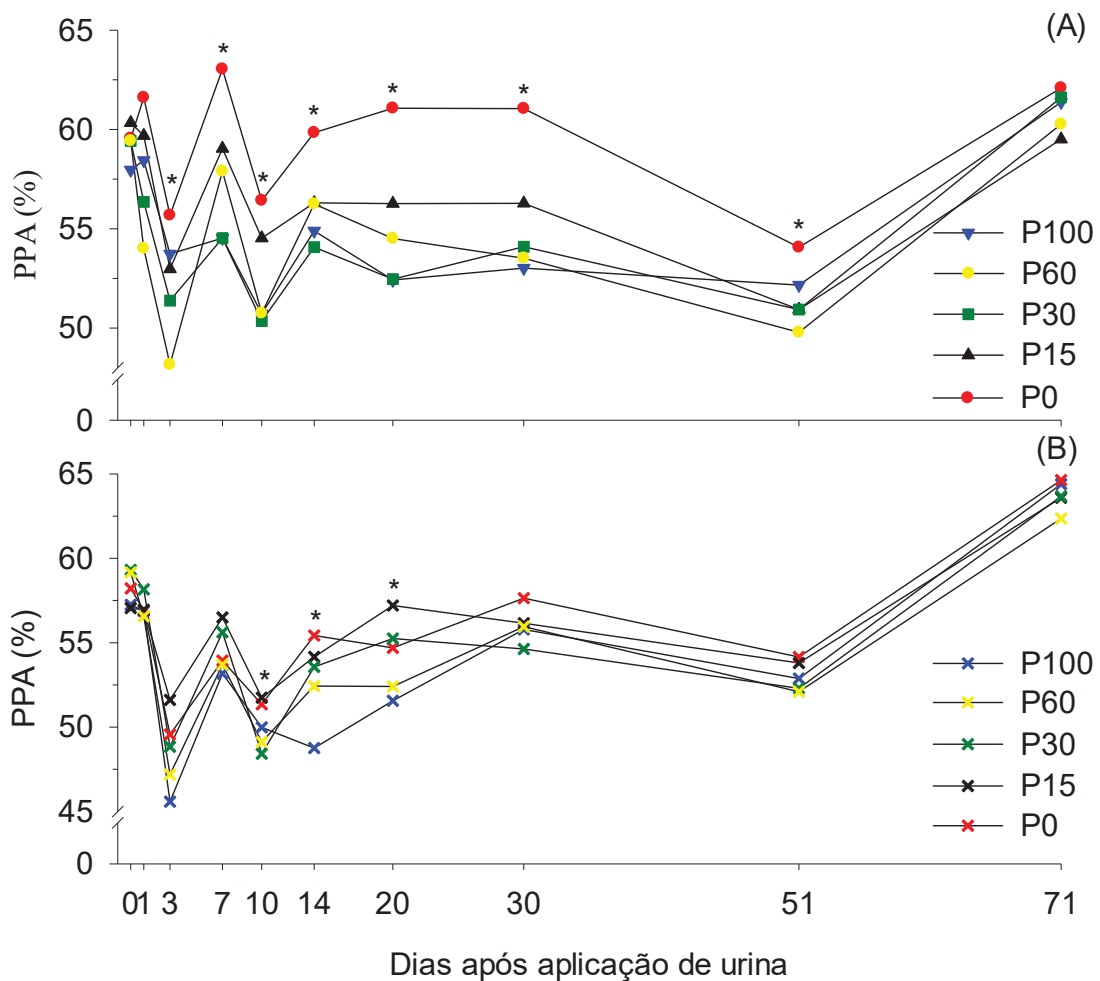
3.4 Porosidade preenchida por água (PPA)

De maneira geral, o aumento das proporções de nabo forrageiro reduziu a PPA do solo. Logo após a aplicação da urina, a PPA dos tratamentos P15 e P0 aumentou para 60,5% e 62,5%, sendo que em P0 esses valores se mantiveram

elevados durante todo o período de avaliação (Figura 9A). Aos 3 dias, os valores de PPA decresceram, ficando abaixo de 56%, seguido por um aumento aos 7 dias, resultando em uma PPA de 63,7% em P0 (Figura 8A), que por sua vez, coincidiu com os fluxos mais intensos de N₂O nesse tratamento (Figura 2). Além disso, a PPA dos tratamentos P15 e P60 aumentou para 58%, e em P100 e P30 permaneceu abaixo de 55%.

Nos tratamentos controle, a PPA do solo foi inferior à 60%, com exceção da última amostragem de ar, que superou 60% (Figura 9B), mas não refletiu em maiores emissões de N₂O (Figura 2).

FIGURA 9. POROSIDADE PREENCHIDA POR ÁGUA (PPA) EM PASTOS DE AVEIA PRETA CONTENDO PROPORÇÕES DE NABO FORRAGEIRO DE 0% (P0), 15% (P15), 30% (P30), 60% (P60) E 100% (P100). (A) TRATAMENTOS COM URINA E (B) TRATAMENTOS CONTROLE. PERÍODO DE AVALIAÇÃO FOI 71 DIAS APÓS APLICAÇÃO DA URINA. PINHAIS - PARANÁ, 2019.



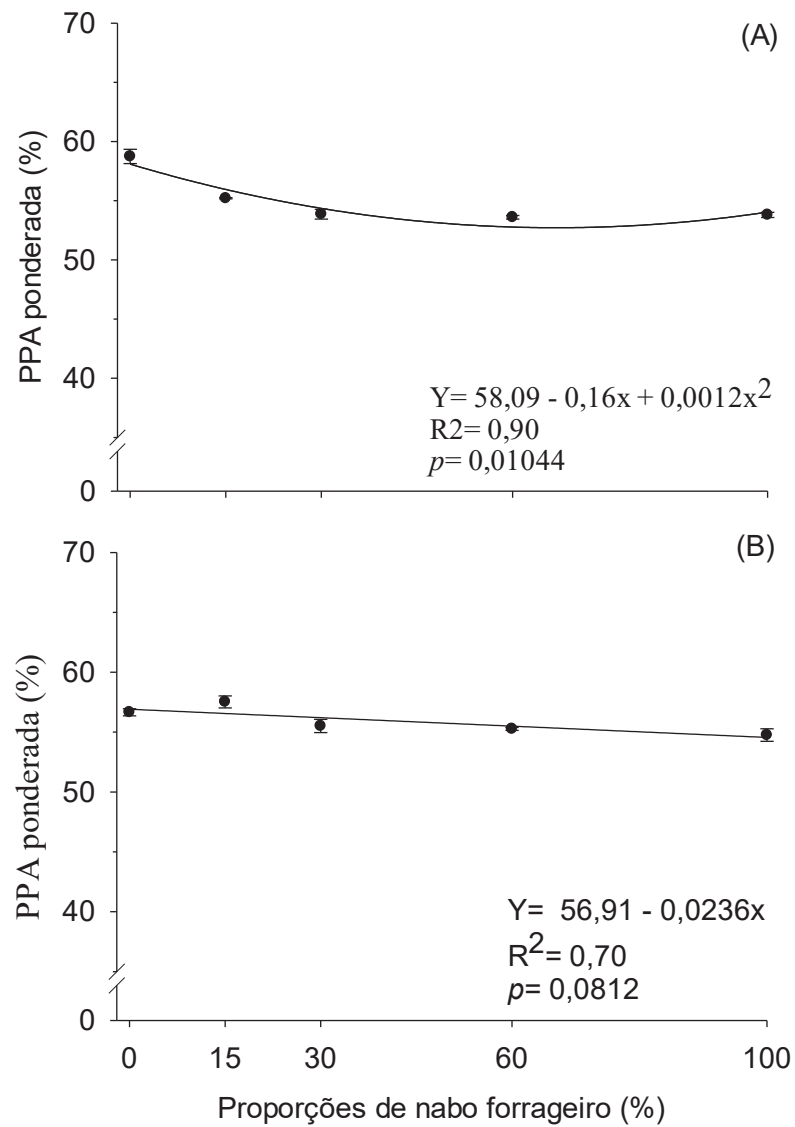
FONTE: O autor (2019).

LEGENDA: Asteriscos indicam a significância entre os tratamentos, de acordo com as regressões ($p < 0.05$).

A PPA ponderada dos tratamentos com urina foi maior no tratamento P0, com 58,7%, sendo um reflexo dos elevados valores de PPA durante o período de avaliação (71 dias); e foi mais baixo no tratamento P60, com 53,6% (Figura 10A). No controle, a PPA ponderada foi mais baixa no tratamento P15, com 57,5%, seguido por P0, com 56,6% (Figura 10B). Os demais tratamentos (P30, P60 e P100) apresentaram valores de PPA intermediários entre P0 e P15, com uma variação de $53,6 \pm 0,14\%$ na urina, e $55 \pm 0,27\%$ para o controle, o que deixa evidente que a umidade do solo diminuiu com o aumento nas proporções de nabo forrageiro.

A relação entre o acumulado de N_2O e a PPA ponderada demonstrou que o aumento da PPA contribuiu para o aumento das emissões acumuladas de N_2O (Figura 11), sendo que a maior PPA ponderada do tratamento P0 (58,6%), apresentou uma emissão acumulada de $448,7 \text{ mg m}^{-2} \text{ N-N}_2\text{O}$ ($R^2= 0,65$), enquanto que a menor PPA ponderada no tratamento P60 (53,6%) resultou numa emissão acumulada de $301 \text{ mg m}^{-2} \text{ N-N}_2\text{O}$.

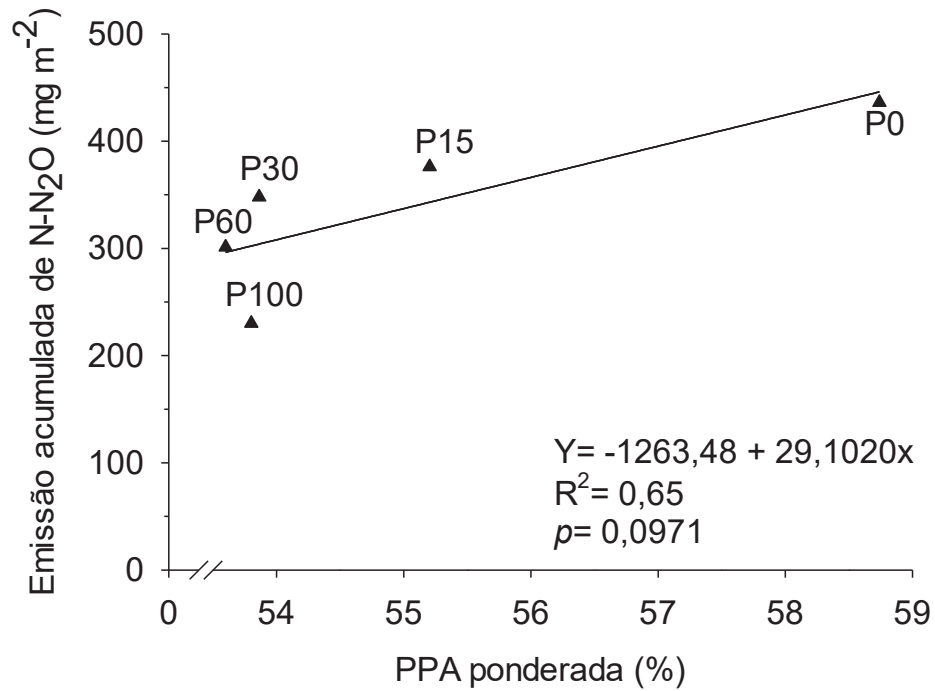
FIGURA 10. POROSIDADE PREENCHIDA POR ÁGUA (PPA) PONDERADA DOS TRATAMENTOS COM URINA (A) E CONTROLE (B) EM PASTOS DE AVEIA PRETA CONTENDO PROPORÇÕES DE NABO FORRAGEIRO DE 0% (P0), 15% (P15), 30% (P30), 60% (P60) E 100% (P100). PERÍODO DE AVALIAÇÃO FOI 71 DIAS APÓS APLICAÇÃO DA URINA. PINHAIS - PARANÁ, 2019.



FONTE: O autor (2019)

LEGENDA: Barras verticais representam o erro padrão. ($p < 0,05$).

FIGURA 11. RELAÇÃO ENTRE O ACUMULADO DE ÓXIDO NITROSO (N₂O) E A POROSIDADE PREENCHIDA POR ÁGUA (PPA) PONDERADA EM PASTOS DE AVEIA PRETA CONTENDO PROPORÇÕES DE NABO FORRAGEIRO DE 0% (P0), 15% (P15), 30% (P30), 60% (P60) E 100% (P100). PERÍODO DE AVALIAÇÃO FOI 71 DIAS APÓS APLICAÇÃO DA URINA. PINHAIS - PARANÁ, 2019.



FONTE: O autor (2019)

4 DISCUSSÃO

4.1 Efeito do nabo forrageiro na redução das emissões de N₂O

O aumento nas proporções de nabo forrageiro em consórcio com a pastagem de aveia preta teve um efeito positivo em reduzir linearmente as emissões de N₂O das manchas de urina (Figura 3). No entanto, não houve evidência de que essa diminuição na emissão de N₂O estivesse associada a uma eventual inibição da nitrificação pelo nabo forrageiro, como previsto inicialmente na hipótese. As maiores concentrações e intensidades de nitrato foram justamente nas maiores proporções de nabo forrageiro, P100 e P60 (Figura 5B e Figura 6B), assim como as maiores taxas de variação na concentração de nitrato durante e após o pico de emissão de N₂O (Figura 7), o que não evidencia um efeito inibitório do nabo sobre a nitrificação. Se a liberação de exsudatos radiculares pelo nabo tivessem exercendo um efeito inibitório sobre a nitrificação, as concentrações de NH₄⁺ deveriam permanecer elevadas por um período prolongado, ou então, diminuir de maneira lenta, o que poderia indicar uma baixa atividade das bactérias nitrificantes (*Nitrossomonas* e *Nitrobacter*). Contudo, o que se observou foi uma intensa transformação do N no solo (três dias após a aplicação da urina).

Apesar de não verificarmos um efeito inibitório, diversos estudos apontam que a liberação de metabólitos secundários pelas raízes das plantas requer condições específicas, como pH, temperatura, salinidade e fertilidade (Valentine, 2007), mas que ainda são parcialmente desconhecidas, principalmente em brássicas. A ausência de efeito inibitório sobre a nitrificação também foi observada nos estudos de Balvert et al. (2017), que testaram uma variedade de produtos provenientes da hidrólise dos glucosinolatos, já identificados como potenciais inibidores da nitrificação, porém não evidenciaram efeito desses produtos quando aplicados em um experimento de campo, enquanto que os produtos aplicados em um solo incubado mostraram-se eficazes em inibir a nitrificação. Na Nova Zelândia, diversas espécies de plantas pertencente à família das brassicas foram reconhecidas por seu potencial IBN, incluindo nabos folhosos (*Brassica rapa*; syn. *B. campestris*), nabos de bulbo (*Brassica rapa*; syn. *B. campestris*), nabo silvestre (*Brassica napus* spp. *napobrassica*), couve (*Brassica oleracea* spp. *acephala*) e colza forrageira (*Brassica*

napus spp. *biennis*), no entanto, os estudos com essas espécies ainda são preliminares (Ruiter et al., 2009).

A PPA do solo foi provavelmente o principal fator responsável por regular as emissões de N_2O em nosso estudo, mesmo com uma PPA ponderada abaixo de 60% (Figura 10A). Os valores mais altos de PPA foram observados nas menores proporções de nabo, como em P0 e P15 (Figura 9A), coincidindo com os maiores fluxos de N_2O nesses tratamentos (Figura 3). Possivelmente, a maior umidade do solo nesses tratamentos esteja associada a maior densidade de plantas de aveia, e conseqüentemente, a uma menor exposição da superfície do solo a radiação solar, reduzindo a evaporação direta. Os valores de PPA em torno de 60% após a aplicação de urina indicam que o processo de nitrosação (primeira etapa da nitrificação) foi o principal processo responsável por oxidar o NH_4^+ em NO_2^- (nitrito), e a partir desse NO_2^- produzir N_2O através do processo de desnitrificação-nitrificante, que é mediado por bactérias quimioautotróficas, e ocorre em condições limitantes de O_2 ou quando o NO_2^- é utilizado como acceptor de energia (adaptado de Wrage et al., 2001).

Por sua vez, o NH_4^+ que não foi transformado em N_2O na primeira etapa da nitrificação, foi transformado em NO_3^- (nitratação), o que de fato foi evidenciado pelo consumo do NH_4^+ (Figura 5A) e o aumento contínuo nas concentrações de NO_3^- (Figura 5B). A elevação da PPA para valores acima de 60% em períodos críticos como no pico de emissão de N_2O (Figura 9), pode ter favorecido a redução desse NO_3^- pelo processo de desnitrificação, gerando como produto intermediário o N_2O . Nesse processo, a elevação da umidade (PPA) reduz a oxigenação e a difusão dos gases no solo, estimulando a produção de N_2O em microsítios de anaerobiose (Azam et al., 2002; Snyder et al., 2009). Van der Weerden et al. (2017) observaram que a deposição de urina em solos cultivados com couve forrageira (*Brassica oleracea* L.) tiveram uma emissão menor de N_2O em um solo compactado, em relação a um solo não compactado, devido a restrição na difusão de oxigênio do solo, além da disponibilidade de substrato (carbono e nitrogênio), (Uchida et al., 2008).

Por outro lado, o aumento nas proporções de nabo forrageiro reduziu as emissões diretas de N_2O , principalmente nos tratamentos P100 e P60, onde os fluxos de N_2O foram 58% e 35% menores em relação ao tratamento P0, respectivamente (Figura 3). Os valores mais baixos de PPA nesses tratamentos,

refletiram em uma PPA ponderada abaixo de 54%, durante todo o período de avaliação (Figura 10A), o que acabou restringindo a desnitrificação, que de fato é favorecida quando as condições de O₂ no solo são limitantes. Os valores de PPA sugerem quais eventos estão sendo predominantes no processo de transformação do N no solo. Valores de PPA abaixo de 60% como observado nas maiores proporções de nabo (P100 e P60), indicam a predominância da nitrificação, ou desnitrificação-nitrificante, enquanto que valores de PPA acima de 60% favorecem as bactérias desnitrificantes, do gênero *Pseudomonas*, *Sinorhizobium*, *Rizobium*, *Alcaligenes*, *Bacillus*, *Thiobacillus* e *Azoarcus* (Bueno et al., 2015), que são responsáveis pela maior parcela do N₂O emitido pelo solo (Firestone & Davidson, 1989). A redução da umidade do solo nesses tratamentos pode estar relacionada a maior perda de umidade por evaporação, corroborando com Hoogendoorn et al. (2016), que observaram que a pastagem de azevém consorciada com trevo branco apresentava uma capacidade maior de absorver umidade do solo em relação ao tratamento com colza, que devido a sua distribuição esparsa no solo deixava uma maior quantidade de solo exposto à evaporação direta.

A ausência da inibição da nitrificação pelo nabo pode estar relacionada a dois importantes fatores: o primeiro a um efeito limitado ou de curta duração dos produtos da hidrólise dos glucosinolatos no solo, causado por algum fator ambiental, ou pelo próprio pastejo simulado, o qual poderia ter estimulado a liberação de exsudatos no solo, ou então limitado a sua produção e liberação, devido a planta demandar a maior parte da energia para recompor o tecido foliar, o que deixa em evidência a necessidade de esclarecer os mecanismos e as condições ideais para a liberação dos exsudatos. Segundo Bennett e Wallsgrove (1994), a variedade dos metabólitos, a quantidade e a composição podem variar de acordo com a família, a espécie, e o ambiente físico e químico do local onde essas plantas estão se desenvolvendo. Além disso, a própria planta possui potencial de manipular quantitativa e qualitativamente os perfis de glucosinolatos nos tecidos vegetais, dependendo das condições ambientais em que se encontram (Halkier e Du, 1997).

Alguns estudos observaram que a maior eficácia dos produtos de glucosinolatos em inibir a nitrificação do solo seria por meio da supressão das populações de bactérias oxidantes de amônia (BOA) (Bending e Lincoln, 2000). No entanto, Balvert et al. (2017) observaram que em solo incubado, produtos como o Ph-ITC reduziu o NO₃⁻ e as emissões de N₂O, mas não reduziu significativamente a

abundância de genes BOA; enquanto que o produto PI-ITC reduziu a abundância do gene BOA, mas não mitigou as emissões de N_2O , o que mostra a especificidade de determinados compostos. Os autores também sugerem que a eficácia dos produtos da hidrólise dos GLS são de curta duração no solo, e podem ter sido perdidos para a atmosfera devido à elevada volatilidade dos compostos. Choesin e Boerner (1991) observaram que muitos produtos da hidrólise dos GLS são perdidos por volatilização, sendo que os ITCs são rapidamente degradados no solo, restando poucos vestígios 44 horas após a aplicação (Rumberger e Marschner, 2003). Além disso, alguns produtos são mais eficientes quando atuam em sinergia com outros compostos, por exemplo, o 2-propenil-ITC é mais eficaz em inibir a nitrificação quando interage sinergicamente com o sulfureto de dimetil (Bending e Lincoln, 2000).

Um segundo fator pode estar relacionado a classe de solo e os teores de matéria orgânica (MOS). Bremner e McCarty (1993) observaram que os terpenos liberados pelas brassicas foram mais eficientes em inibir a nitrificação por atuarem diretamente na imobilização do N do solo, pelo fato de que a microbiota do solo utiliza o composto como fonte de C, e isso poderia ser mais expressivo em solos com elevados teores de MOS. Com relação a classe de solos, Bending e Lincoln (2000), também verificaram que a aplicação de 2-propenil-ITC reduziu a população de bactérias oxidantes de NH_4^+ em uma condição de solo franco argiloso, mas não apresentou efeito significativo nas populações de bactérias oxidantes de NO_2^- em um solo franco arenoso. Além disso, os ITCs quando aplicados em um solo franco argiloso não apresentaram efeito sobre a população de bactérias oxidantes de NO_2^- , mas reduziram o metabolismo do NH_4^+ em um solo com característica franco arenosa (Bending e Lincoln, 2000).

Os fluxos de N_2O mais baixos nos tratamentos com as maiores proporção de nabo resultou na redução linear das emissões acumuladas de N_2O (Figura 4A), em que o tratamento P100 ($238,5 \text{ mg m}^{-2} \text{ N-N}_2\text{O}$) reduziu 47% das emissões acumuladas em relação ao P0 ($448,7 \text{ mg m}^{-2} \text{ N-N}_2\text{O}$). Esse comportamento também foi verificado por Simon et al., (2019), que também observaram uma redução linear nas emissões acumuladas de N_2O com o aumento das proporções de plantain (*Plantago lanceolata*), possivelmente por um efeito inibitório. As emissões acumuladas mais baixas tiveram uma relação direta com a PPA ponderada do solo, como mostra a relação (Figura 11) ($R^2= 0,65$). Barneze et al. (2014) verificaram que

as emissões cumulativas podem variar muito com a chuva e as condições de umidade do solo durante e após a aplicação da urina, e que também corroboram com resultados de Clough et al. (2004), que observaram uma relação exponencial entre os fluxos de N_2O e a PPA do solo.

Além disso, as emissões acumuladas sugerem um efeito cíclico do N no solo (urina, solo e atmosfera), onde as maiores proporções de nabo apresentaram um acúmulo mais intenso de NH_4^+ e NO_3^- na camada de 0-5 cm (Figura 6A e 6B), possivelmente pela maior influência da matéria orgânica do solo (MOS), aliado à baixa demanda desse nutriente pela cultura do nabo, enquanto que as intensidades mais baixas de N (P15 e P0), podem indicar um caminho oposto, em que o N pode ter sido parcialmente absorvido pelas plantas de aveia (Abalos et al., 2018), devido à maior demanda desse nutriente pela cultura, e o N residual servido como substrato para a comunidade de bactérias desnitrificantes, estimulando as emissões de N_2O para a atmosfera. A relação entre o acumulado de N_2O e as intensidade de N- NH_4^+ ($R^2= 0,74$) (Figura 8A) e N- NO_3^- ($R^2= 0,56$) (Figura 8B) reforçam esse efeito, em que os tratamentos com as maiores intensidades de N inorgânico (P100 e P60) promoveram emissões acumuladas mais baixas.

4.2 Dinâmica temporal das emissões de N_2O

O aumento das emissões de N_2O após a aplicação da urina no solo (Figura 3) pode ser explicada pela elevada concentração de uréia na urina e sua rápida hidrólise em NH_4^+ , uma vez que 70 a 95% de todo o N ingerido na dieta dos ruminantes é excretado na forma de esterco e urina (Oenema et al., 2005; Selbie et al., 2015). Quando esse processo foi mais intenso, ocorreu o pico de concentração de NH_4^+ , 3 dias após a aplicação da urina (Figura 5A), o que desencadeou inicialmente o processo de nitrificação e posteriormente a desnitrificação. Nesse intervalo, ocorreu o pico de emissão de N_2O , cerca de 7 dias a aplicação da urina, corroborando com 112 medições realizadas em pastagens da Nova Zelândia, onde o pico de N_2O também ocorreu 7 dias após a aplicação da urina (de Klein et al., 2003; Hoogendoorn et al., 2008, Kelliher et al. 2014; Luo et al., 2015b; Van der Weerden et al., 2011).

Os picos de N_2O em P0 ($1370 \mu g N-N_2O m^2 h^{-1}$), P15 ($1227 \mu g N-N_2O m^2 h^{-1}$) e P30 ($1223 \mu g N-N_2O m^2 h^{-1}$) foram semelhantes aos picos observados por Barneze

et al. (2017), que relataram uma taxa de emissão máxima de $1250 \mu\text{g N-N}_2\text{O m}^2 \text{ h}^{-1}$, e Maljanen et al. (2007) com picos máximos de $1200 \mu\text{g N-N}_2\text{O m}^2 \text{ h}^{-1}$, em manchas de urina sob solo de pastagem. Apesar disso, a magnitude desses picos pode variar de acordo com a dieta e a idade dos animais, podendo resultar em picos ainda maiores, como observado por de Klein et al. (2003) e Sordi et al. (2014), que verificaram fluxos superiores a $3190 \mu\text{g N-N}_2\text{O m}^2 \text{ h}^{-1}$, em manchas de urina sob pastagem.

Após o pico de maior emissão, os fluxos de N_2O foram mais baixos, e a partir dos 30 dias, não se observou mais efeito das maiores proporções de nabo em atuar na mitigação das emissões. Além disso, aos 58 dias após a aplicação, os tratamentos com urina tiveram emissões semelhantes aos tratamentos controle, o que se deve a redução da atividade microbiana, devido ao consumo do NH_4^+ (Figura 5A), aliado ao declínio nas concentrações de NO_3^- (Figura 5B).

4.3 Fator de emissão da urina bovina

O FE médio em todos tratamentos com urina foi de 0,47%, sendo que o menor FE foi observado em solos cultivados com nabo puro, com 0,31%, enquanto que o solo com aveia pura resultou em um FE de 0,61%, o que gerou uma diferença de 49% entre as espécies cultivadas puras (Figura 4B). Essa diferença foi semelhante à de Luo et al. (2015a), que relataram um FE de 0,27% para solos tratados com urina de ovelhas alimentadas com azevém, e 0,11% para aqueles solos tratados com colza, o que representou uma redução de 60%. Ainda assim, os valores estão muito abaixo daquele preconizado pelo IPCC, de 2%, e estão relativamente próximos aos 0,34% encontrados por Simon et al. (2018), 0,20% por Barneze et al., (2014) e 0,26% por Sordi et al., (2014).

A redução nos FE's de solos cultivados com nabo (brássica) e solos tratados com a urina de animais alimentados com colza (brássica) (Luo et al., 2015a) evidenciam a capacidade das brássicas em atuar na redução das emissões, independente se por um efeito de inibição da nitrificação, ou pelas condições ambientais (umidade). De fato, esses resultados sugerem que estudos avaliando o efeito combinado entre as espécies de brássicas poderiam aumentar a capacidade de mitigar as emissões de N_2O do solo, uma vez que os estudos mais recentes

indicam que o efeito principal está na dieta de animais alimentados com brássicas (Hoogendoorn et al., 2016; Yao et al., 2018).

Diversos são os fatores que podem influenciar na magnitude dos FE's, principalmente nas condições do subtropical, onde as condições climáticas são mais definidas, aliado à solos com boas condições de drenagem (Sordi et al., 2014; Simon et al., 2018). Nossos valores estão abaixo do padrão estabelecido pelo IPCC, que é de 2% para dejetos animais depositados ao solo (faixa de incerteza de 0,7 a 6% do N depositado) (IPCC, 2006). Essa enorme variabilidade nos FE's destaca a importância de determinar FE específicos para cada estação e condição climática. Por exemplo, na Nova Zelândia, o FE para urina é de 1% e para esterco 0,25% (New Zealand, 2012), enquanto que na Austrália, o FE para urina é de 0,4% e esterco, 0,5%. Outros estudos observaram faixas mais amplas de FE, como Luo et al. (2008), com FE's de 0,02% a 1,59%; e De Klein et al. (2003), com FE's de 0,3 a 2,5% em diferentes solos de pastagem da Nova Zelândia.

5 CONCLUSÃO

O uso de nabo forrageiro em consorcio com aveia preta mostrou-se eficiente na redução da emissão de N_2O a partir de urina bovina, alcançando uma taxa de redução de até 47% nas emissões acumuladas em relação a monocultura de aveia preta.

O aumento da proporção de nabo forrageiro em pastos de aveia preta reduziu linearmente as emissões de N_2O após a deposição de urina bovina. O efeito do nabo na redução destas emissões não pode ser justificado pela concentração de N inorgânico do solo, sendo a umidade do solo (PPA) possivelmente o principal mecanismo responsável por estas perdas.

Os FEs obtidos no presente estudos variaram de 0,31% (nabo forrageiro) a 0,61% (aveia preta em monocultura). Estes valores estão abaixo do FE recomendado pelo IPCC, 2006 de 2% para dejetos bovinos depositados em solo de pastagem.

REFERÊNCIAS

- ABALOS, D.; VAN GROENIGEN, J. W.; DE DEYN, G. B. What plant functional traits can reduce nitrous oxide emissions from intensively managed grasslands?. **Global Change Biology**, v. 24, n. 1, p. e248-e258, 2018.
- ALVARES, C. A., et al. Köppen's climate classification map for Brazil. *Meteorol. Zeitschrift*. v.22, p.711-728, 2013;
- ANGHINONI, I. et al. Abordagem sistêmica do solo em sistemas integrados de produção agrícola e pecuária no subtropical brasileiro. **Tópicos em Ciência do Solo**, v. 8, n. 2, p. 325-380, 2013.
- AUSTRALIAN NATIONAL GREENHOUSE ACCOUNTS: National Inventory Report 2012. Department of Climate Change and Energy Efficiency, Australia, 2012.
- AZAM, F. et al. Nitrification and denitrification as sources of atmospheric nitrous oxide-role of oxidizable carbon and applied nitrogen. **Biology and Fertility of Soils, Berlin**, v. 35, n. 1, p. 54061, 2002.
- BAGGS, E. M.; PHILIPPOT, L. Microbial terrestrial pathways to nitrous oxide. **Nitrous oxide and climate change**, p. 256, 2010.
- BALVERT, S. F.; LUO, J.; SCHIPPER, L. A. Do glucosinolate hydrolysis products reduce nitrous oxide emissions from urine affected soil?. **Science of the Total Environment**, v. 603, p. 370-380, 2017.
- BARNEZE, A. S. et al. Nitrous oxide emissions from soil due to urine deposition by grazing cattle in Brazil. **Atmospheric Environment**, v. 92, p. 394-397, 2014.
- BARTON, L. et al. Nitrous oxide emissions from a cropped soil in a semi-arid climate. **Global Change Biology**, v. 14, n. 1, p. 177-192, 2008.
- BARTHOLOMAEUS, A.; AHOKAS, J. Inhibition of P-450 by aucubin: is the biological activity of aucubin due to its glutaraldehyde-like aglycone?. **Toxicology letters**, v. 80, n. 1-3, p. 75-83, 1995.
- BAYER, C. et al. A seven-year study on the effects of fall soil tillage on yield-scaled greenhouse gas emission from flood irrigated rice in a humid subtropical climate. **Soil and Tillage Research**, v. 145, p. 118-125, 2015.
- BENDING, G. D.; LINCOLN, S. D. Inhibition of soil nitrifying bacteria communities and their activities by glucosinolate hydrolysis products. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 32, n. 8-9, p. 1261-1269, 2000.
- BENNETT, R. N.; WALLSGROVE, R. M. Secondary metabolites in plant defence mechanisms. **New phytologist**, v. 127, n. 4, p. 617-633, 1994.

BLENNERHASSETT, J. D. et al. The potential for increasing nitrogen responses using Agrotain treated urea. In: **Proceedings of the New Zealand Grassland Association**. p. 297-301, 2006.

BREMNER, J. M.; MCCARTY, G. W. Inhibition of nitrification in soil by allelochemicals derived from plants and plant residues. **Soil biochemistry**, v. 8, p. 181-218, 1993.

BROUCEK, J. Nitrous oxide production from soil and manure application: A review. **Slovak Journal of Animal Science**, v. 50, n. 1, p. 21-32, 2017.

BROWN, P. D.; MORRA, M. J. Brassicaceae tissues as inhibitors of nitrification in soil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 17, p. 7706-7711, 2009.

BUENO, E. et al. Anoxic growth of *Ensifer meliloti* 1021 by N₂O-reduction, a potential mitigation strategy. **Frontiers in Microbiology**, v. 6, n. 537, 2015.

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

BYRNES, R. C. et al. Biological nitrification inhibition by *Brachiaria* grasses mitigates soil nitrous oxide emissions from bovine urine patches. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 107, p. 156-163, 2017.

CARDENAS, L. M. et al. Effect of the application of cattle urine with or without the nitrification inhibitor DCD, and dung on greenhouse gas emissions from a UK grassland soil. **Agriculture, ecosystems & environment**, v. 235, p. 229-241, 2016.

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

CHOESIN, D, N.; BOERNER, R. E. J. Allyl isothiocyanate release and the allelopathic potential of *Brassica napus* (Brassicaceae). **American journal of botany**, v. 78, n. 8, p. 1083-1090, 1991.

CLOUGH, T. J. et al. Lime and soil moisture effects on nitrous oxide emissions from a urine patch. **Soil Science Society of America Journal**, v. 68, n. 5, p. 1600-1609, 2004.

CRUSCIOL, C. A. C. et al. Persistência de palhada e liberação de nutrientes do nabo forrageiro no plantio direto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 40, n. 2, p. 161-168, 2005.

de RUITER, J. M. et al. **Management practices for forage brassicas**. Christchurch, New Zealand: Forage Brassica Development Group, 2009.

DI, H. J. et al. The potential of using alternative pastures, forage crops and gibberellic acid to mitigate nitrous oxide emissions. **Journal of Soils and Sediments**, v. 16, n. 9, p. 2252-2262, 2016.

DI, H. J.; Cameron, K. C. Inhibition of nitrification to mitigate nitrate leaching and nitrous oxide emissions in grazed grassland: a review. **Journal of Soils and Sediments**, v. 16, n. 5, p. 1401-1420, 2016.

DI, H. J.; Cameron, K. C. Reducing environmental impacts of agriculture by using a fine particle suspension nitrification inhibitor to decrease nitrate leaching from grazed pastures. **Agriculture, ecosystems & environment**, v. 109, n. 3-4, p. 202-212, 2005.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Manual de métodos de análise de solo. 2. Rio de Janeiro, RJ: Embrapa Solos, 1997.

FIRESTONE, M. K. et al. Microbiological basis of NO and N₂O production and consumption in soil. **Exchange of trace gases between terrestrial ecosystems and the atmosphere**, v. 47, p. 7-21, 1989.

FORSTER, P. et al. Changes in atmospheric constituents and in radiative forcing. Chapter 2. In: **Climate Change 2007. The Physical Science Basis**. 2007.

FRANCESCO, N. T. et al. The FAOSTAT database of greenhouse gas emissions from agriculture. *Environment Research Letters*. 8, 015009. 2013.

GARDINER, C. A. et al. 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**, v. 59, n. 3, p. 301-317, 2016.

GRIFFIS, Timothy J. et al. Nitrous oxide emissions are enhanced in a warmer and wetter world. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 114, n. 45, p. 12081-12085, 2017.

HALKIER, B. A.; DU, L. The biosynthesis of glucosinolates. **Trends in plant science**, v. 2, n. 11, p. 425-431, 1997.

HAMBRIDGE, J. QuikChem method 12-107-04-1-J: determination of nitrate in 2M KCl soil extracts by flow injection analysis. 1. Loveland: Lachat Instruments, 2007. [a]

HAMBRIDGE, J. QuikChem method 12-107-06-2-F: determination of ammonia (salicylate) in 2 M KCl soil extracts by flow injection analysis (high throughput). 1. Loveland: Lachat Instruments, 2007. [b]

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

HEINZMANN, F. X.; MIYAZAWA, M.; PAVAN, M. A. Determinação de nitrato em extratos de solos ácidos por espectrofotometria de absorção ultravioleta. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 8, p. 159-163, 1984.

HOOGENDOORN, C. J. et al. Nitrous oxide emission factors for urine from sheep and cattle fed forage rape (*Brassica napus* L.) or perennial ryegrass/white clover pasture (*Lolium perenne* L./*Trifolium repens*). **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 227, p. 11-23, 2016.

HOOGENDOORN, C. J. et al. The effect of increasing rates of nitrogen fertiliser and a nitrification inhibitor on nitrous oxide emissions from urine patches on sheep grazed hill country pasture. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v. 48, n. 2, p. 147-151, 2008.

Instituto brasileiro de geografia e estatística – IBGE, 2018. Produção Da Pecuária Municipal 2017. Base De Dados Agregados, Pesquisa Pecuária Municipal: Efetivo Dos Rebanhos. Available at: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em:
<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/ppm/2017/default.shtm>.

International panel on climate change, 2014. Climate change 2014: synthesis report. In: Writing Team, Core, Pachauri, R.K., Meyer, L. (Eds.), Fifth Assessment Report. 1-151, Geneva, Switzerland.

International panel on climate change, 2007. In: SOLOMON, S. et al. (Eds.), Climate Change 2007: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA [Technical Summary].

Intergovernmental panel on climate change, 2006. IPCC: Guideline for National Greenhouse Inventories. Intergovernmental Panel on Climate Change IPCC. France, Paris (IPCC/OECD/IEA).

International panel on climate change, 1997. In: Guidelines for National Greenhouse Inventories, Chapter 4. Agriculture: nitrous oxide from agricultural soils and manure management. OECD, Paris, France.

KAWAKISHI, S.; KANEKO, T. Interaction of proteins with allyl isothiocyanate. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 35, n. 1, p. 85-88, 1987.

KAWAKISHI, S.; KANEKO, T. Interaction of oxidized glutathione with allyl isothiocyanate. **Phytochemistry**, v. 24, n. 4, p. 715-718, 1985.

KELLIHER, F. M. et al. Statistical analysis of nitrous oxide emission factors from pastoral agriculture field trials conducted in New Zealand. **Environmental Pollution**, v. 186, p. 63-66, 2014.

de KLEIN, C. A. et al. A review of plant options for mitigating nitrous oxide emissions from pasture-based systems. **New Zealand Journal of Agricultural Research**, v. 63, n. 1, p. 29-43, 2019.

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

LENTON, T. M. Early warning of climate tipping points. **Nature climate change**, v. 1, n. 4, p. 201-209, 2011.

LIMA, J. D. et al. Comportamento do nabo forrageiro (*Raphanus sativus* L.) e da nabiça (*Raphanus raphanistrum* L.) como adubo verde. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 37, n. 1, p. 60-63, 2007.

LOPES, M. L. T. et al. Sistema de integração lavoura-pecuária: efeito do manejo da altura em pastagem de aveia preta e azevém anual sobre o rendimento da cultura da soja. **Ciência Rural**, v. 39, n. 5, p. 1499-1506, 2009.

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**, v. 610, p. 1271-1280, 2018.

LUO, J. et al. Effect of dicyandiamide (DCD) on nitrous oxide emissions from cow urine deposited on a pasture soil, as influenced by DCD application method and rate. **Animal Production Science**, v. 56, n. 3, p. 350-354, 2016.

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**, v. 9, n. 3, p. 534-543, 2015. [a]

LUO, J. et al. Effect of dicyandiamide (DCD) delivery method, application rate, and season on pasture urine patch nitrous oxide emissions. **Biology and Fertility of Soils**, v. 51, n. 4, p. 453-464, 2015. [b]

LUO, J. et al. Management options to reduce nitrous oxide emissions from intensively grazed pastures: a review. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 136, n. 3-4, p. 282-291, 2010.

LUO, J.; LINDSEY, S. B.; LEDGARD, S. F. Nitrous oxide emissions from animal urine application on a New Zealand pasture. **Biology and Fertility of Soils**, v. 44, n. 3, p. 463-470, 2008.

LUO, J. et al. Determination of the N₂O Emission Factor for Animal Dung Applied in Spring in Three Regions of New Zealand. Report for the Ministry of Agriculture and Forestry. Ministry of Agriculture and Forestry, Wellington.

MALJANEN, Marja et al. Fluxes of nitrous oxide and nitric oxide from experimental excreta patches in boreal agricultural soil. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 39, n. 4, p. 914-920, 2007.

MINISTÉRIO DA CIÊNCIA, TECNOLOGIA, INOVAÇÕES E COMUNICAÇÕES (MCTIC): secretaria de Políticas e Programas de Pesquisa e Desenvolvimento – SEPED, coordenação geral do clima – CGCL. Estimativas Anuais de Emissões de Efeito Estufa no Brasil. 4 ed. 2017.

MINISTRY FOR THE ENVIRONMENT. New Zealand's Environmental Reporting Series: Our Atmosphere and Climate 2017. Retrieved from www.mfe.govt.nz and www.stats.govt.nz. 2017.

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

MULVANEY, R. L. Nitrogen – Inorganics forms. In: BARTELS, J. M. et al. Eds. Methods of soil analysis. Part 3 - Chemical methods. 5 ed. Madison, Soil Science Society of American Book Series, p. 1123- 1184, 1996.

OENEMA, O. et al. Trends in global nitrous oxide emissions from animal production systems. **Nutrient cycling in Agroecosystems**. v. 72, n. 1, p. 51-65, 2005.

OENEMA, O. et al. Nitrous oxide emissions from grazed grassland. **Soil use and Management**, v. 13, p. 288-295, 1997.

PARKIN, T. et al. Chamber-based trace gas flux measurement protocol. USDA-ARS GRACE net, 2003.

PIVA, J. T. et al. Emissions of Nitrous Oxide and Methane in a Subtropical Ferralsol Subjected to Nitrogen Fertilization and Sheep Grazing in Integrated Crop-Livestock System. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 43, e0180140. 2019.

PIVA, J. T. et al. Soil gaseous N₂O and CH₄ emissions and carbon pool due to integrated crop-livestock in a subtropical Ferralsol. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, 190, 87-93. 2014.

REAY, D. S. et al. Global agriculture and nitrous oxide emissions. **Nature climate change**, v. 2, n. 6, p. 410-416, 2012.

REINERT, D. J. et al. Limites críticos de densidade do solo para o crescimento de raízes de plantas de cobertura em Argissolo Vermelho. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 32, n. 5, p. 1805-1816, 2008.

RIBEIRO, R. H. et al. Managing grazing intensity to reduce the global warming potential in integrated crop–livestock systems under no-till agriculture. **European Journal of Soil Science**, v. 71, n. 6, p. 1120-1131, 2020.

RUMBERGER, A.; MARSCHNER, P. 2-Phenylethylisothiocyanate concentration and microbial community composition in the rhizosphere of canola. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 35, n. 3, p. 445-452, 2003.

SANTOS, H. G. et al. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Brasília, DF: Embrapa, 2018.

SELBIE, D. R.; BUCKTHOUGHT, L. E.; SHEPHERD, M. A. The challenge of the urine patch for managing nitrogen in grazed pasture systems. **Advances in Agronomy**, v. 129, p. 229-292, 2015.

SELBIE, D. R. et al. The effect of urinary nitrogen loading rate and a nitrification inhibitor on nitrous oxide emissions from a temperate grassland soil. **The Journal of Agricultural Science**, v. 152, n. S1, p. 159, 2014.

SISTEMA METEOROLÓGICO DO PARANÁ – SIMEPAR. Sistema de Tecnologia e Monitoramento Ambiental do Paraná. Média Histórica de Temperatura e Precipitação para o estado do Paraná, 2017.

SIMON, P. L. et al. The efficacy of *Plantago lanceolata* for mitigating nitrous oxide emissions from cattle urine patches. **Science of the Total Environment**, v. 691, p. 430-441, 2019.

SIMON, P. L. et al. Nitrous oxide emission factors from cattle urine and dung, and dicyandiamide (DCD) as a mitigation strategy in subtropical pastures. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 267, p. 74-82, 2018.

SMITH, P. et al. Policy and technological constraints to implementation of greenhouse gas mitigation options in agriculture. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 118, n. 1-4, p. 6-28, 2007.

SNYDER, C. S. et al. Review of greenhouse gas emissions from crop production systems and fertilizer management effect. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 133, n. 3-4, p. 247-266, 2009.

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

SOUSSANA, J. F.; LEMAIRE, G. Coupling carbon and nitrogen cycles for environmentally sustainable intensification of grasslands and crop-livestock systems. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 190, p. 9-17, 2014.

SUBBARAO, G. V. et al. Suppression of soil nitrification by plants. **Plant Science**, v. 233, p. 155-164, 2015.

SUBBARAO, G. V. et al. Potential for biological nitrification inhibition to reduce nitrification and N₂O emissions in pasture crop-livestock systems. **Animal**, V.7, p. 322-332, 2013.

SUBBARAO, G. V. et al. Biological nitrification inhibition—a novel strategy to regulate nitrification in agricultural systems. **Advances in agronomy**, v. 114, p. 249-302, 2012.

SUBBARAO, G. V. et al. Evidence for biological nitrification inhibition in *Brachiaria* pastures. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 106, n. 41, p. 17302-17307, 2009.

SUBBARAO, G. V. et al. Biological nitrification inhibition (BNI)—is it a widespread phenomenon?. **Plant and Soil**, v. 294, n. 1, p. 5-18, 2007.

SNYDER, A. J.; JOHNSON-MAYNARD, J. L.; MORRA, M. J. Nitrogen mineralization in soil incubated with ¹⁵N-labeled Brassicaceae seed meals. **Applied Soil Ecology**, v. 46, n. 1, p. 73-80, 2010.

UCHIDA, Y. et al. Effects of aggregate size, soil compaction, and bovine urine on N₂O emissions from a pasture soil. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 40, n. 4, p. 924-931, 2008.

VALENTINE, D. L. Adaptations to energy stress dictate the ecology and evolution of the Archaea. **Nature Reviews Microbiology**, v. 5, n. 4, p. 316-323, 2007.

VAN DER WEERDEN, T. J. et al. Nitrous oxide emissions from cattle urine deposited onto soil supporting a winter forage kale crop. **New Zealand Journal of Agricultural Research**, v. 60, n. 2, p. 119-130, 2017.

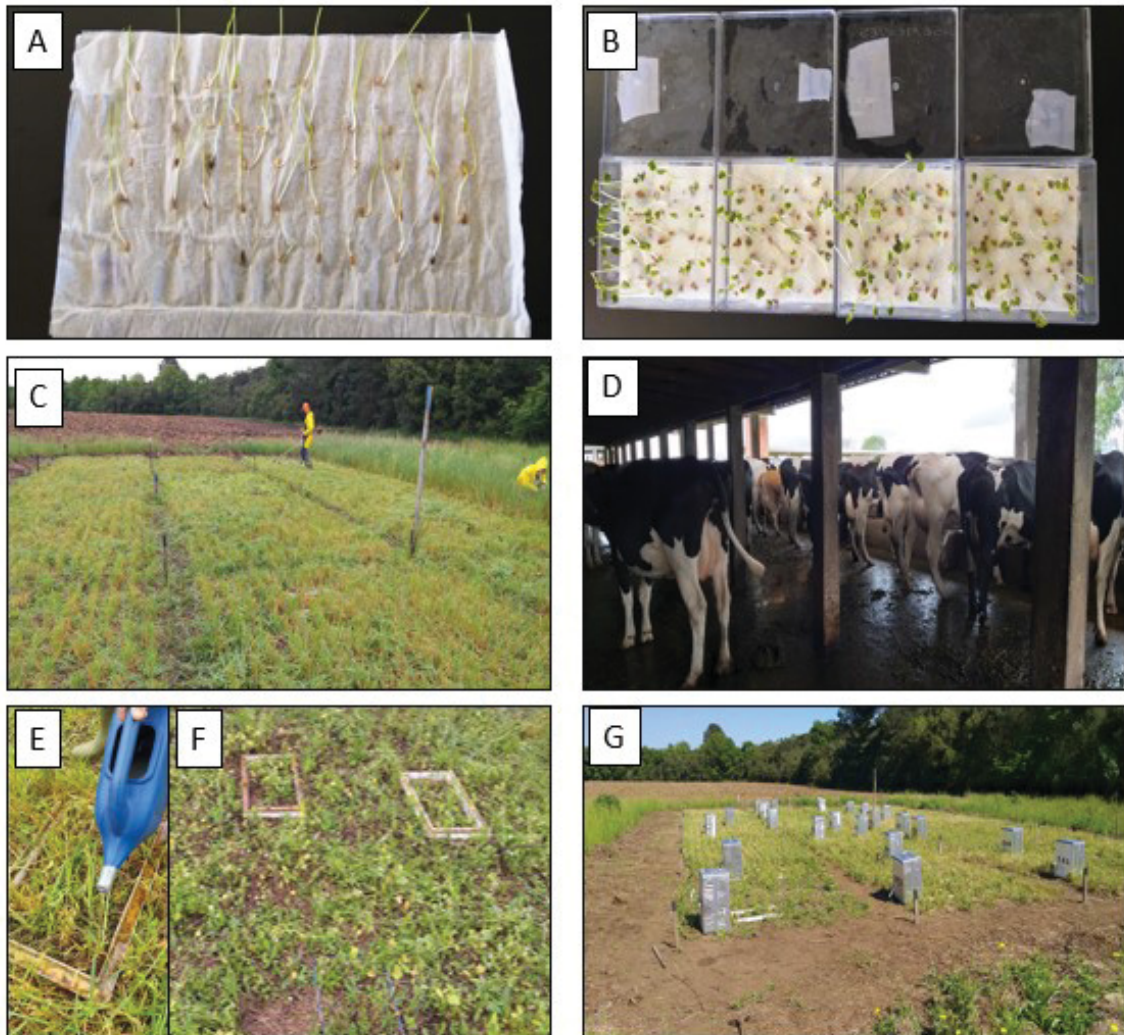
VAN GROENIGEN, J. W. et al. The soil N cycle: new insights and key challenges. **Soil**, v. 1, n. 1, p. 235-256, 2015.

WRAGE, N. et al. Role of nitrifier denitrification in the production of nitrous oxide. *Soil Biology and Biochemistry*. 2001; 33:1723–1732.

ZIECH, A. R. D. et al. Proteção do solo por plantas de cobertura de ciclo hibernar na região Sul do Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 50, n. 5, p. 374-382, 2015.

YAO, B. et al. Understanding the mechanisms for the lower nitrous oxide emissions from fodder beet urine compared with kale urine from dairy cows. **journal of soils and sediments**, v. 18, n. 1, p. 85-93, 2018.

APÊNDICE



APÊNDICE: Sementes de aveia-preta sobre papel germitest (A). Sementes de nabo forrageiro em caixas de germinação gerbox (B). Pastejo simulado com residual da pastagem de 15 cm em pré aplicação de urina (C). Vacas na sala de espera aguardando a ordenha (D). Aplicação de urina sobre o solo de pastagem na área delimitada pela base metálica (E). Distância entre a base do tratamento controle (esquerda) e a base que recebeu urina (direita) (F). Câmaras alocadas próximas às bases de metal para início da coleta de gás (G).

MATERIAL SUPLEMENTAR

Tabela 1. Equação das regressões aplicadas ao fluxo de N₂O de manchas de urina em pastos de aveia preta contendo proporções de nabo forrageiro de 0% (P0), 15% (P15), 30% (P30), 60% (P60) e 100% (P100) (p<0.05). Pinhais-PR, Brasil, 2019.

Dias após aplicação de urina	Equação	R ²	p-valor
0	$\hat{y} = 163,71$	ns	0,966
1	$\hat{y} = 157,4 + 1,575x$	0,85	0,027
3	$\hat{y} = 648,22$	ns	0,52
7	$\hat{y} = 1386 - 8,0337x$	0,98	0,002
10	$\hat{y} = 651,81 - 3,6544x$	0,94	0,001
14	$\hat{y} = 401,6 - 235x$	0,91	0,003
20	$\hat{y} = 423,12 - 2,7731x$	0,86	0,005
30	$\hat{y} = 94$	ns	0,098
58	$\hat{y} = 26,74$	ns	0,692
71	$\hat{y} = 27,58$	ns	0,851

Tabela 2. Equação das regressões aplicadas ao teor de amônio (NH₄⁺) e nitrato (NO₃⁻) do solo de manchas de urina em pastos de aveia preta contendo proporções de nabo forrageiro de 0% (P0), 15% (P15), 30% (P30), 60% (P60) e 100% (P100) (p<0.05). Pinhais-PR, Brasil, 2019.

Dias após aplicação de urina	Equação	R ²	p-valor
<i>N-NH₄⁺</i>			
0	$\hat{y} = 330,37$	ns	0,264
1	$\hat{y} = 417,37$	ns	0,520
3	$\hat{y} = 464,05$	ns	0,160
7	$\hat{y} = 371,50$	ns	0,863
10	$\hat{y} = 384,50$	ns	0,504
14	$\hat{y} = 278,03$	ns	0,977
20	$\hat{y} = 192,78$	ns	0,431
30	$\hat{y} = 26,57 + 143,21x - 110,09x^2$	0,81	0,009
58	$\hat{y} = 5,36$	ns	0,319
71	$\hat{y} = 7,25$	ns	0,731
<i>N-NO₃⁻</i>			
0	$\hat{y} = 1,98$	ns	0,706
1	$\hat{y} = 2,98$	ns	0,174
3	$\hat{y} = 9,65 + 3,30x$	0,92	0,030
7	$\hat{y} = 38,40$	ns	0,287
10	$\hat{y} = 79,21$	ns	0,545
14	$\hat{y} = 114,19$	ns	0,413
20	$\hat{y} = 158,26$	ns	0,652
30	$\hat{y} = 151,56$	ns	0,344
58	$\hat{y} = 39,22$	ns	0,175
71	$\hat{y} = 6,49$	ns	0,550

Tabela 3. Equação das regressões aplicadas a porosidade preenchida por água dos tratamentos com urina (A) e controle (sem urina) (B) em pastos contendo proporções de nabo forrageiro (0%, 15%, 30%, 60% e 100%) em pastagem de aveia preta após aplicação de urina bovina ($p < 0.05$). Pinhais-PR, Brasil, 2019.

Dias após aplicação de urina	Equação	R ²	p-valor
<i>PPA tratamentos (% nabo)</i>			
0	$\hat{y} = 59,34$	ns	0,378
1	$\hat{y} = 62,20 - 26,21x + 22,30x^2$	0,96	0,000
3	$\hat{y} = 56,10 - 25,58x + 22,97x^2$	0,94	0,026
7	$\hat{y} = 60,4 - 6,36x$	0,51	0,034
10	$\hat{y} = 52,55$	ns	0,051
14	$\hat{y} = 58,51 - 7,91x$	0,74	0,004
20	$\hat{y} = 55,34$	ns	0,086
30	$\hat{y} = 60,20 - 22,38x + 15,53x^2$	0,92	0,038
58	$\hat{y} = 53,66 - 14,38x + 12,94x^2$	0,90	0,038
71	$\hat{y} = 60,97$	ns	0,976
<i>PPA controle</i>			
0	$\hat{y} = 58,19$	ns	0,866
1	$\hat{y} = 57,09$	ns	0,891
3	$\hat{y} = 48,55$	ns	0,098
7	$\hat{y} = 54,58$	ns	0,405
10	$\hat{y} = 51,69 - 6,26x$	0,84	0,010
14	$\hat{y} = 55,43 - 6,27x$	0,97	0,002
20	$\hat{y} = 56,17 - 4,75x$	0,69	0,048
30	$\hat{y} = 56,03$	ns	0,302
58	$\hat{y} = 54,51$	ns	0,395
71	$\hat{y} = 66,48$	ns	0,923

Tabela 4. Equação das regressões aplicadas a taxa de nitrificação em pastos contendo proporções de nabo forrageiro (0%, 15%, 30%, 60% e 100%) em pastagem de aveia preta após aplicação de urina bovina ($p < 0.05$). Pinhais-PR, Brasil, 2019.

Intervalo entre coletas (dias)	Equação	R ²	p-valor
<i>PPA tratamentos (% nabo)</i>			
0	-	-	-
0,5	$\hat{y} = 1,00$	ns	0,196
2	$\hat{y} = 4,01$	ns	0,092
5	$\hat{y} = 6,84$	ns	0,596
8	$\hat{y} = 13,6$	ns	0,462
12	$\hat{y} = 13,54 - 0,0925x$	ns	0,017
17	$\hat{y} = 6,68$	ns	0,054
25	$\hat{y} = -3,60 + 0,18x - 0,0016x^2$	ns	0,007
44	$\hat{y} = -5,32$	ns	0,735
61	$\hat{y} = 0,052 - 0,091x + 0,00069x^2$	ns	0,000