

EFFECTO DE LA DIETA PARA BOVINOS A BASE DE *Leucaena leucocephala* EN LAS EMISIONES DE N₂O EN PARCHE DE ORINA SIMULADO EN UN SISTEMA SILVOPASTORIL EN LA ÉPOCA DE ESTIAJE

Effect of the diet for cattle based on *Leucaena leucocephala* on the emission of N₂O in a simulated urine patch in a silvopastoral system in the dry season

Tania Guadalupe OSORIO-MONTOR¹, Octavio Alonso CASTELÁN-ORTEGA²,
Viviana SAYNES-SANTILLÁN³, Francisco SALAZAR-SPERBERG⁴ y Francisca AVILÉS-NOVA^{1*}

¹ Universidad Autónoma del Estado de México, Centro Universitario Temascaltepec, kilómetro 67.5, carretera Toluca-Tejupilco, Barrio de Santiago, Temascaltepec de González, C.P. 51300, Estado de México, México.

² Universidad Autónoma del Estado de México, El Cerrillo Piedras Blancas, Toluca, C.P. 50090, Estado de México, México.

³ Colegio de Postgraduados, kilómetro 36.5, carretera México-Texcoco, Montecillo, Texcoco, C.P. 56230, Estado de México, México.

⁴ Instituto Nacional de Investigación Agrícola, Remehue, Casilla 24-O, Osorno, Chile.

*Autora para correspondencia: franavilesnova@yahoo.com.mx

(Recibido: octubre 2021; aceptado: enero 2023)

Palabras clave: óxido nitroso, cambio climático, ganadería, gas de efecto invernadero.

RESUMEN

El N₂O tiene un potencial de calentamiento global de 300 veces mayor que el CO₂ y en los sistemas silvopastoriles, la orina es una fuente de emisión de N₂O. El objetivo de la investigación fue evaluar el efecto de la dieta para bovinos a base de *Leucaena leucocephala* sobre las emisiones de N₂O en parche de orina simulado en un sistema silvopastoril. Se utilizó una pradera de *Cynodon plectostachyus* y se realizaron 13 muestreos durante marzo - abril de 2021. Los tratamientos fueron A: 20 kg de urea/ha a partir de orina de bovinos alimentados con 100 % heno de *C. plectostachyus* + 0 % de *L. leucocephala*, B: 36 kg de urea/ha a partir de orina de bovinos alimentados con 16 % de *L. leucocephala* + 84 % de *C. plectostachyus* y C: 79 kg de urea/ha a partir de orina de bovinos alimentados con 33 % de *L. leucocephala* + 67 % de *C. plectostachyus*. Se utilizó un diseño completamente al azar con cuatro repeticiones. Se utilizaron cámaras de acero inoxidable cerradas estáticas para la obtención de muestras de gases a los 0, 10, 20 y 30 minutos. Se registraron la temperatura ambiental, pH, humedad, contenidos de nitrato y amonio en el suelo. Se analizaron los datos con el programa estadístico SAS 9.0. El flujo de emisión de N₂O (µg m²/h) entre tratamientos no presentó diferencias significativas. El pico de emisión se observó en el cuarto día de muestreo en los tratamientos (A: 17.49, B: 23.71 y C: 22.88 µg N₂O N m²/h). Además, existió una correlación positiva entre el flujo de N₂O y la humedad del suelo. El incremento de la cantidad de *L. leucocephala* en la dieta de los animales no influyó sobre la emisión de N₂O, debido a la concentración de urea en la orina. Sin embargo, se observó una correlación positiva con la humedad del suelo.

Key words: nitrous oxide, climate change, livestock, emissions.

ABSTRACT

N₂O has a global warming potential of 300 times greater than CO₂, and in silvopastoral systems, urine is a source of N₂O emission. The objective of the research was to evaluate the effect of the diet for bovines based on *Leucaena leucocephala* on N₂O emissions in a simulated urine patch in a silvopastoral system. A *Cynodon plectostachyus* meadow was used, and 13 samplings were carried out during March - April 2021. The treatments were, A: 20 kg of urea/ha from bovine urine fed with 100% *C. plectostachyus* hay + 0% *L. leucocephala*, B: 36 kg of urea/ha from the urine of bovines fed with 16% of *L. leucocephala* + 84% of *C. plectostachyus* and C: 79 kg of urea/ha from the urine of bovines fed with 33% *L. leucocephala* + 67% *C. plectostachyus*. A completely randomized design with four replicates was used. Static closed stainless-steel chambers were used to obtain gas samples at 0, 10, 20 and 30 minutes. Environmental temperature, pH, humidity, nitrate and ammonium contents in the soil were recorded. Data were analyzed with the statistical program SAS 9.0. The N₂O emission flux (µg/m²/h) between treatments did not present significant differences. The emission peak was observed on the fourth day of sampling in the treatments (A: 17.49, B: 23.71 and C: 22.88 µg N₂O N m²/h). In addition, there was a positive correlation between the N₂O flux and soil moisture. The increase in the amount of *L. leucocephala* in the diet of the animals did not influence the emission of N₂O, due to the concentration of urea in the urine. However, a positive correlation with soil moisture was observed.

INTRODUCCIÓN

De acuerdo con la FAO (2018), la ganadería es una actividad que afecta de manera negativa al ambiente al contribuir al cambio climático mediante la emisión de gases de efecto invernadero (GEI). El Panel Intergubernamental de Cambio Climático (IPCC 2013), señala que los principales GEI emitidos son el dióxido de carbono (CO₂), el metano (CH₄) y el óxido nitroso (N₂O). Estas emisiones son provocadas por la producción de alimentos, la fermentación entérica, los desechos de animales y el cambio en el uso de la tierra (FAO 2018). Según la FAO (2019), el ganado vacuno es el mayor emisor de GEI, con alrededor de 5024 Gigatoneladas de CO₂-eq, que representan el 62 % del total de emisiones/especie animal.

El N₂O es un gas con un potencial de calentamiento global (PCG) 298 veces mayor que el del CO₂ (Butterbach-Bahl et al. 2013) y contribuye con hasta el 6 % al calentamiento global estratosférico (Shakoor et al. 2021). La permanencia del N₂O en la estratósfera ocasiona la destrucción de la capa de ozono, al provocar que esta se vuelva más delgada (CATIE 2015).

El 60 % del N₂O que se emite a la atmósfera proviene de fuentes naturales y aproximadamente el 40 % es de origen antrópico. Las fuentes de este gas incluyen a los océanos, los suelos, la quema de biomasa, el uso de fertilizantes y los procesos

industriales. La fracción molar del N₂O, promediada globalmente en 2019, alcanzó 332.0 ± 0.1 partes por billón (ppb), según la Organización Meteorológica Mundial (WMO 2020).

En los suelos, el N₂O se produce como intermedio en varios procesos promovidos por microorganismos en la nitrificación y desnitrificación (Braker y Conrad 2011, Signor y Pellegrino 2013).

A nivel mundial, los sistemas de producción de ganado bajo pastoreo en praderas y pasturas fertilizadas con nitrógeno (N), además del N depositado al suelo a través del estiércol y orina, aportan 54 % de las emisiones anuales de N₂O, seguidos de la aplicación de estiércol (13 %) y la de fertilizantes nitrogenados con 7 % (Dangal et al. 2019). Núñez et al. (2019), determinaron emisiones de N₂O en suelo pastoreado por bovinos en pasto Tanner (*Brachiaria radicans* Napper), los tratamientos fueron: testigo con solo pasto, orina de bovinos (1 L/cámara, 0.044 m³) y urea, y fertilizante nitrogenado de liberación lenta al 46 % (218.18 kg/ha). Estos autores reportan una emisión de N₂O de 0.36 mg/L para la orina bovina, 0.26 mg/L para el pasto (testigo) y 0.22 mg/L para la urea. Lo anterior indica que pasturas con el manejo adecuado de fertilización con nitrógeno (urea) presentan menor emisión de N₂O que la orina de los bovinos.

En ese sentido, los parches de orina bovina se caracterizan por contener altas concentraciones

de N (500-1000 kg/ha), siendo la urea el principal componente nitrogenado. Sin embargo, es necesario considerar que la aplicación de orina al suelo podría resultar en emisiones instantáneas de N, ya que el N depositado en el suelo se hidroliza a NH₄⁺ y se transforma en NO₃⁻ para producir el N₂O (Whitehead 1995, Núñez et al. 2007, Barneze et al. 2014). Normalmente, los parches de orina cubren áreas de superficie efectiva de 0.24 a 0.68 m². En general, cada parche de orina, contiene dos veces más N que el requerido por los pastos para su mantenimiento y crecimiento (Selbie et al. 2015). Además, se debe considerar el patrón en el parche, contenido de orina derramada y la profundidad de pérdida en determinados períodos de tiempo (Koops et al. 1997). En una granja lechera ubicada en Canterbury, la región más fría de Nueva Zelanda, con temperatura máxima diaria en promedio de 17 °C, se reportó que la proporción significativa del N en la orina depositada es vulnerable a la pérdida en diferentes formas, como N₂O, NO y N₂ (Di y Cameron 2002).

Las tendencias globales demandan soluciones alternativas para disminuir los procesos de degradación del suelo y reducir las emisiones de GEI, para lo cual, la implementación de sistemas silvopastoriles (SSP) se ha convertido en una estrategia para lograrlo (Murgueitio-Restrepo et al. 2016). En los sistemas ganaderos en el trópico, la estrategia incluye la captura de carbono y el aumento de la biodiversidad. Siendo considerados los SSP como fundamentales para una producción sostenible, especialmente frente al cambio climático (Alonso 2011).

Rochette y Janzen (2005) concluyen que en los proyectos de remoción de GEI, se cuestiona la inclusión de especies leguminosas debido al incremento en las entradas de N₂ al suelo a través de la fijación biológica, que produce aumento de N en la atmósfera por los procesos de nitrificación y desnitrificación. Naranjo et al. (2012) en Colombia evaluaron las emisiones de CO₂ eq/ha/año de sistemas silvopastoriles intensivos (SSPi), con altas densidades de *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit, (más de 10 000 arbustos/ha), asociada con pastos de alta producción de biomasa. Reportan emisiones de 0 kg CO₂ eq/ha/año dado que no se fertilizó con N sintético (0 % N), las emisiones del SSPi, por fijación biológica de N fueron de 876.9 kg CO₂ eq/ha/año y las emisiones por heces y orina fueron de 1230 kg CO₂ eq/ha/año. En ese sentido, es importante conocer el efecto real que tiene la utilización de gramíneas-leguminosas arbóreas en los SSP en México sobre las emisiones de N₂O debido al parche

de orina de bovinos. Por tal motivo, el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la dieta para bovinos a base de *Leucaena leucocephala* sobre las emisiones de N₂O en parche de orina simulado en un sistema SSP en la época de estiaje.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

El experimento se realizó en la época de estiaje durante marzo-abril del año 2021, en una pradera de *Cynodon plectostachyus* (K. Schum.) Pilger., con cinco años de establecimiento y sin fertilización, ubicada en el Rancho “El Peñón” en Temascaltepec, Estado de México. La pradera se encuentra en las coordenadas 19° 3' 4.21" N y 100° 6' 58.57" O, a una altitud de 1840 m snm, con temperatura promedio anual de 18 °C, precipitación anual entre 800 a 1600 mL, suelo con textura arcilla limosa, pH de 5.8, contenidos de materia orgánica de 0.67 %, contenido de NO₃⁻, NH₄⁺, fósforo y potasio de 8.5, 9.0, 2.5 y 18 mg/L, respectivamente

Tratamientos

Los tratamientos fueron: A: 20 kg de urea/ha a partir de orina de bovinos alimentados con 100 % heno de *C. plectostachyus* + 0 % de *L. leucocephala*, B: 36 kg de urea/ha a partir de orina de bovinos alimentados con 16 % de *L. leucocephala* + 84 % de *C. plectostachyus* y C: 79 kg de urea/ha a partir de orina de bovinos alimentados con 33 % de *L. leucocephala* + 67 % de *C. plectostachyus* (**Cuadro I**).

CUADRO I. CONTENIDO DE NITRÓGENO URÉICO Y UREA EN ORINA (mg/dL), Y DE UREA EXPRESADA EN kg/ha DE LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS.

Tratamiento	Nitrógeno uréico	Urea	Urea
	mg/dL		kg/ha
A	74.6	159.6	20
B	137.0	293.0	36
C	382.0	631.5	79

Tratamiento A: 20 kg urea/ha en la orina de bovinos alimentados con 100 % de heno de *C. plectostachyus* + 0 % de *L. leucocephala*. Tratamiento B: 36 kg urea/ha en la orina de bovinos alimentados con 16 % de *L. leucocephala* + 84 % de *C. plectostachyus*. Tratamiento C: 79 kg urea/ha en la orina de bovinos alimentados con 33 % de *L. leucocephala* + 67 % de *C. plectostachyus*.

Dietas ofrecidas a los bovinos

Las dietas ofrecidas a los bovinos se elaboraron con diferentes niveles de inclusión de heno de *L. leucocephala*: (0 %, 16 % y 33 %). Las dietas de los tratamientos B y C simularon el consumo de forraje en un sistema silvopastoril (gramínea-leguminosa) y la orina obtenida de los bovinos asperjada en las microparcels simuló el parche de la orina en el sistema. La dieta del tratamiento A simuló el consumo de forraje en una pradera de *C. plectostachyus*. La simulación del parche de orina en el SSP se realizó para que la cantidad de orina (mL) en el interior de las cámaras y en el resto de las microparcels fuera similar y, además, para evitar el efecto del pisoteo y la excreción de heces y orina (**Cuadro II**). Las dietas se suministraron durante nueve días consecutivos, los primeros siete días se consideraron como periodo de adaptación y en los dos siguientes se colectó la orina para cada tratamiento. Las dietas se proporcionaron a libre acceso y el consumo diario del alimento se estimó mediante lectura de comedero: alimento ofrecido (g) menos alimento rechazado (g).

Obtención de la orina de bovinos

Para la obtención de orina se utilizaron seis hembras de raza Simmental de 250 kg de peso vivo medio (± 50 kg), distribuidas al azar a las dietas, de forma tal que quedaron dos hembras para cada tratamiento, las que se colocaron en corraletas individuales de madera (3 m \times 3 m) acondicionadas con bebedero y comedero. El manejo de los animales se realizó de acuerdo con lo establecido en el reglamento y uso de cuidado de animales destinados a la investigación de la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999 (SAGARPA 1999).

La orina se obtuvo de las becerras a través de estimulación del área vulvar. La recolección de orina se realizó al final de cada tiempo, de 8:00 a 12:00, 12:00 a 16:00, 16:00 a 20:00, 20:00 a 24:00 y de 24:00 a 8:00 h, según propuesta de Chen et al. (1992). Al final de la colecta, la orina de las dos hembras de cada tratamiento se homogeneizó y se midieron 5.0 L de orina para la aplicación en los segmentos de las microparcels y en el interior de las cámaras en cada tratamiento. Del volumen total de orina colectada de cada tratamiento se tomó una muestra de 40 mL, se acidificó con 2.0 mL H_2SO_4 0.036 normal/cada 20 mL de orina, se colocó en un frasco de vidrio de 60 mL. (Valadares et al. 1999) y se trasladó al laboratorio Médico Monar en un termo a 2 °C para analizar la concentración de N ureico (mg/dL) y urea (mg/dL). En los tratamientos, la concentración de urea de la orina aplicada en la superficie del suelo de 0 -10 cm de profundidad en

cada microparcels (2 m²) se multiplicó por 10 000 m² para estimar la concentración de urea por hectárea.

Colocación de las cámaras estáticas en las microparcels

El área experimental consistió de 12 microparcels (2 m \times 1 m) divididas en dos segmentos de un 1 m². En un segmento de cada microparcels se colocó una cámara estática de acero inoxidable de flujo cerrado, con volumen de 16.51 L, diámetro de 29 cm y altura de 25 cm (Mogge et al. 1999). Se utilizaron cuatro cámaras por tratamiento, las cuales estaban equipadas con una válvula de ventilación a un costado y un tapón de caucho (septo) en la parte superior. Estas fueron colocadas a una profundidad de 10 cm y distribuidas en cada microparcels.

Simulación del parche de orina

Los parches de orina se simularon mediante la aplicación homogénea de orina con un aspersor manual en el suelo de cada segmento y en el interior de la cámara (0.066 m²). En cada segmento de la microparcels se realizaron dos aplicaciones de orina, cada uno de 625 mL/m² antes de los muestreos 3 y 4. La orina correspondiente al interior de la cámara se calculó considerando el área de la cámara (41.25 mL/aplicación). La cantidad de orina asperjada en los segmentos y en las cámaras fue similar entre tratamientos, pero la concentración de N ureico fue diferente (**Cuadro II**).

Riego de las microparcels

El segundo día de muestreo se realizó el riego de cada microparcels, que también incluyó el suelo del interior de la cámara. Se usaron 20 L de agua potable que no contenía N y se aplicó con una mochila de aspersión Pretul FM 15 P. El riego se basó en el manejo que los productores de ganado realizan en las praderas en la época de estiaje.

Medición de las emisiones de óxido nítrico

La medición de la emisión de N₂O se realizó durante el período marzo a abril de 2021, con 13 eventos de muestreo de la siguiente manera:

Muestreo de referencia (sin aplicación de tratamientos ni riego), el día 1, muestreo posterior al riego, día 2, muestreo posterior a la simulación de la mancha de orina, día 3 al día 10 y muestreos semanales los días 11, 12 y 13.

En el monitoreo de los flujos de N₂O, se cerraban las cámaras para extraer cuatro muestras secuenciales de aire a intervalos de tiempo de 0, 10, 20 y 30 min. La muestra extraída se depositó en viales de vidrio

CUADRO II. PROPORCIÓN DE *Leucaena leucocephala* EN LAS DIETAS OFRECIDAS A LAS BECERRAS PARA LA OBTENCIÓN DE LA ORINA.

Dietas	Heno de <i>Leucaena leucocephala</i>	Heno de <i>Cynodon plectostachyus</i>	PC %	Consumo PC g /día/animal
	kg			
A	0	9.0	7.78	702
B	1.5	7.5	12.6	1260
C	3.0	6.0	14.3	1430

Dieta A: 0 % de *L. leucocephala* en la dieta B: 16 % de *L. leucocephala* en la dieta C: 33 % de *L. leucocephala* en la dieta, PC %: porcentaje de proteína cruda.

color ámbar de 14 mL y sellados. En cada intervalo se utilizó una jeringa de 20 mL para la extracción, la que se introdujo a través de un septo. Previamente a la extracción del gas, el aire dentro de la cámara se mezcló al mover el embolo de la jeringa tres veces y enseguida se extrajo el gas (Hernández-Tapia et al. 2019). La temperatura (°C) se registró al interior de cada cámara mediante el uso de sensores HOBO MX2202 Pendant durante el muestreo. Al finalizar los muestreos de medición de gas se retiró la tapa de las cámaras.

Las muestras se analizaron en un cromatógrafo de gases marca Shimadzu modelo GC-2014 Greenhouse Gas Analyzer, equipado con un detector de captura de electrones (ECD) con una fuente de radiación de ⁶³Ni y funcionamiento a 325 °C. El equipo se calibró a través de estándares de grado analítico de la marca Scott Specialty Gases® (Venterea et al. 2005). Las muestras de aire contenidas en los viales provenientes de campo se inyectaron en el cromatógrafo mediante el uso de una jeringa Hamilton de 5 mL SYR (22/2" /2). Los flujos de N₂O se calcularon a partir del aumento lineal o no lineal de las concentraciones dentro de la cámara a través del tiempo. Las concentraciones de gas se convirtieron de ppm a µg de N₂O-N por m²/h a través de la siguiente fórmula (Hernández-Tapia et al. 2019):

$$N_2O - Nflux = \frac{\delta N_2O * M\omega * V * 60}{A * M_{vcorr}}$$

Donde:

δN_2O es la pendiente de N₂O (ppm/min), $M\omega$ es el peso molecular de N₂O (N₂O - N = 28 µg/µmol) V es el volumen de la cámara (m²), A es la superficie del área medida de la cámara (m²), 60 es el factor de conversión minutos a hora y M_{vcorr} es el volumen molar corregido: $M_{vcorr} = 22.41 \times 273.15 + temp / 273.15 \times 0.8004$, donde 22.41 es el volumen molar (L) a temperatura y presión estándar de cualquier gas,

273.15 es el factor de conversión de °C a °K, $temp$ es la temperatura de la cámara (°C) cuando está cerrada, ρ_0 es la presión del aire a nivel del mar (1 atm) y ρ_1 es la presión del aire en el sitio experimental (0.8004 atm).

Temperatura al interior de las cámaras

La temperatura (°C) se registró al interior de cada cámara mediante el uso de sensores HOBO MX2202 Pendant durante 30 minutos de muestreo.

Manejo de muestras y análisis de suelo

En el segmento de la microparcela contiguo al segmento donde se colocó la cámara, al finalizar cada muestreo de N₂O, se tomó una muestra de 50 g de suelo a 10 cm de profundidad. Cada muestra se colocó en una bolsa de plástico con cierre, se etiquetó y transportó al laboratorio de suelos del Centro Universitario UAEM Temascaltepec, para la determinación de humedad, pH y las concentraciones de amonio y nitrato.

El porcentaje de humedad del suelo se determinó por el método de diferencia de pesos en estufa de aire forzado a 105 °C durante 24 h; el potencial de hidrógeno (pH) por lectura potenciométrica en solución 1:2 de muestra/agua destilada (potenciómetro modelo Waterproof Tester H198130 Hanna Instruments).

Los valores de NH₄⁺ y NO₃⁻ se obtuvieron a partir de 5 g de muestra filtrada con agua destilada; para la cuantificación de NH₄⁺ se aplicó el reactivo Neesler y para el NO₃⁻ el método conocido con el nombre de reducción de cadmio, que es donde los iones de NO₂⁻ reaccionan en un medio ácido con ácido sulfanílico para formar una sal diazonio intermedia mediante el equipo HI 83215 Nutrient Analysis Photometer Hanna Instruments (Barreras 2020).

Análisis de datos

Los datos de emisiones de N₂O durante los 13 eventos fueron analizados con el programa estadístico SAS System for Windows 9.0 (SAS 2002).

Se realizaron análisis de varianza, análisis de medias a través de la prueba de Tukey ($p < 0.05$) y el coeficiente de correlación de Pearson (r) para conocer las variables que influyen en la emisión de N_2O (Steel y Torrie 1980).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Flujo de emisión de óxido nitroso

Los patrones de flujo de emisión de N_2O/h del suelo tratado con orina de bovinos alimentados con diferentes porcentajes de *L. leucocephala* en la dieta y sin *L. leucocephala* mostraron variabilidad a lo largo del periodo de muestreo, observándose un pico de emisión en el segundo día de aplicación de orina (Tratamiento A con $17.49 \mu g N_2O N m^2/h$; Tratamiento B con $23.71 \mu g N_2O N m^2/h$ y Tratamiento C con $22.88 \mu g N_2O N m^2/h$ (**Fig. 1**). Sin embargo, los resultados del análisis de varianza mostraron que los flujos de N_2O-N no tienen diferencias significativas entre tratamientos ($p > 0.05$; **Cuadro III**). Es decir, que no existe evidencia significativa de un efecto debido al porcentaje de inclusión de *L. leucocephala* en la dieta de los bovinos para la emisión de N_2O por el contenido de urea en el parche de orina en la época de secas. En ese sentido, Dijkstra et al. (2013) señalan que una mayor ingesta de N también aumenta la proporción de N excretado en la orina. Núñez et al. (2021) evaluaron en la República Dominicana, con precipitación promedio de 1766 mm y temperatura media anual de $26.4 \text{ }^\circ\text{C}$, la emisión de N_2O en el suelo de una pastura de pasto Bermuda (*Cynodon dactylon*), utilizada por razas de leche Gyr, Holstein y Pardo

CUADRO III. FLUJO DE ÓXIDO NITROSO DEL SUELO TRATADO CON ORINA DE BOVINOS ALIMENTADOS CON DIFERENTES PORCENTAJES DE *Leucaena leucocephala* EN LA DIETA ($\mu g N_2O N/m^2/h$).

Tratamiento	Promedio	Desviación estándar	Error estándar
A	9.180 ^a	4.594	1.27
B	9.636 ^a	5.482	1.52
C	10.714 ^a	5.663	1.57

Tratamiento: A = 0 % de *L. leucocephala* en la dieta; B = 16.6 % de *L. leucocephala* en la dieta; C = 33.33 % *L. leucocephala* en la dieta. Medias con literales iguales no presentan diferencia significativa ($p < 0.05$). Coeficiente de variación de 25 %. $n = 208$ por tratamiento.

Suizo, en tres tratamientos: testigo (sin aplicación de N), orina (aplicación de 0.250 L de orina bovina en cámara PVC de flujo cerrado ($-9.5 \text{ }^\circ\text{C}$ y altura de $8.4 \text{ }^\circ\text{C}$) y urea de liberación controlada (urea al 46 %; 36 g/cámara) y reportaron emisiones promedio de 0.56 mg/L para el testigo, 1.02 mg/L para la orina y 1.18 mg/L para la urea y las emisiones de N_2O en orina y urea fueron estadísticamente similares ($p > 0.05$). La mayor emisión ocurrió entre los días 5 y 8 y se presentó una reducción en los muestreos posteriores debido al agotamiento de la fuente de nitrógeno en el suelo.

Rendón-Huerta et al. (2018), indican que las estimaciones de GEI se ven afectadas por el porcentaje de proteína cruda (PC) sólo para las estimaciones de N_2O ($p < 0.001$), en donde los valores más altos de N_2O ocurren con dietas con alto contenido de PC (0.52 g/d); esto se debe a que el N_2O está relacionado

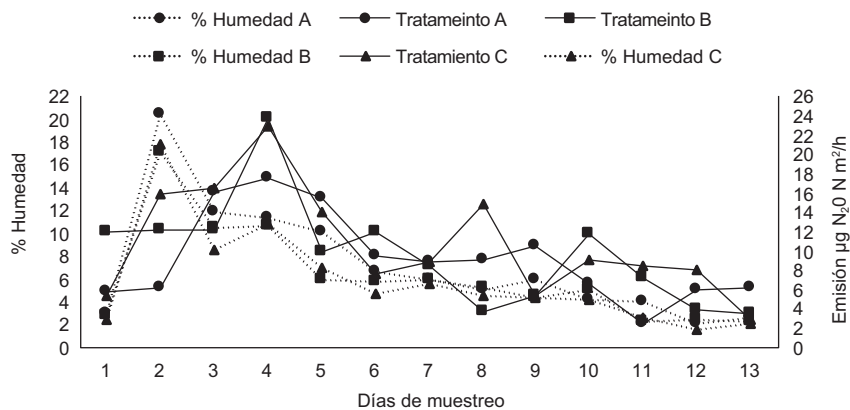


Fig. 1. Porcentaje de humedad en suelo y flujo de emisión de N_2O de los tratamientos durante el muestreo de referencia (sin aplicación de tratamientos ni riego), el día 1; muestreo posterior al riego, día 2; muestreo posterior a la simulación de la mancha de orina, día 3 al día 10, y muestreos semanales los días 11, 12 y 13.

con la excreción de N en los procesos de nitrificación y desnitrificación. Sin embargo, la fracción de N en la orina liberada como N₂O depende del N urinario, la humedad y la temperatura. En este trabajo, las condiciones del suelo determinaron la emisión de N₂O y no el porcentaje de proteína cruda de la dieta relacionado con el contenido de nitrógeno ureico en la orina.

Efectos del periodo de muestreo

Los flujos de emisión de N₂O-N en los diferentes días de muestreo presentaron diferencias altamente significativas ($p = 0.000$, Cuadro IV). Los resultados de este estudio son consistentes con los reportados por Barneze et al. (2014), quienes observaron un aumento escalonado en la emisión de N₂O después de la aplicación de orina, entre los días 1 y 9 con una tasa de emisión máxima el día 3 de 1250 (± 337) $\mu\text{g N}_2\text{O-N/m}^2/\text{h}$. El aumento en la emisión de N₂O se observó a partir de la aplicación de orina en los días 3 y 4, y al avanzar el periodo de muestreo decreció. Williams et al. (1999) y Kelly et al. (2008) reportaron resultados similares en pastura con especies de césped inglés (*Lolium perenne* L.), trébol blanco (*Trifolium repens* L.) y paspalum (*Paspalum dilatatum* Poir.) utilizada para la producción de lácteos. Los tratamientos fueron un testigo, orina de vaca lechera (1000 kg N/ha) y orina de vaca lechera (1000 kg N/ha) + diciandiamida (inhibidor de la nitrificación) incluido (10 kg/ha) en primavera y verano. En este caso hubo un

pico en las emisiones de N₂O inmediatamente después de la aplicación de orina al suelo, para luego decrecer.

Características del suelo, temperatura y efecto en las emisiones

Humedad del suelo

La figura 1 muestra el efecto entre el porcentaje de humedad del suelo y el flujo de emisión de N₂O. En este estudio se observó el incremento de emisiones de N₂O a través del aumento del porcentaje de humedad del suelo debido al riego, sin embargo, los picos de emisión ocurrieron después de la aplicación de los tratamientos.

Davidson (1992) estudió la respuesta de la emisión de N₂O en suelos secos y húmedos y encontró que no hay emisiones durante el periodo en el que el suelo se encuentra seco, en comparación con suelo al que se aplica agua, donde comienza inmediatamente la producción de N₂O. Clough et al. (2004) reportaron una relación exponencial entre el flujo de N₂O y el contenido de humedad de los poros del suelo. Por lo tanto, el flujo acumulativo puede variar según las condiciones de humedad del suelo en el momento de la aplicación de la orina, así como después.

Temperatura al interior de las cámaras

La temperatura al interior de la cámara y la emisión de N₂O mostró relación entre sí, se registró el valor máximo de temperatura y el máximo flujo de emisión de N₂O por tratamiento el día 4 de muestreo (Fig. 2). La fracción de N en la orina liberada como N₂O es relativamente baja cuando la temperatura del suelo es baja. Bertram et al. (2010) observaron que las emisiones de N₂O aumentaron cuando la temperatura del suelo se incrementó de 5 a 15 °C, al registrar el mayor flujo a 20 °C ($> 11\ 000\ \mu\text{g N}_2\text{O-N/m}^2/\text{h}$). Las bajas temperaturas ocasionan la acumulación de MO en el suelo, mientras que las altas (25 °C) favorecen el crecimiento y metabolismo microbiano de bacterias desnitrificantes y nitrificantes, así como la mineralización de la MO (Braker et al. 2010). La comparación de medias indica diferencia significativa entre tratamientos ($p = 0.000$) y muestreos ($p = 0.000$) en relación a la temperatura al interior de las cámaras por tratamiento.

Contenidos de amonio y nitrato en el suelo

El contenido inicial de NH₄⁺ en el suelo presentó diferencias significativas entre tratamientos ($p = 0.001$), siendo para A, B y C de 10.87, 8.75 y 9.62 mg/L, respectivamente (Fig. 3). El contenido de amonio del suelo en los muestreos presentó diferencias significativas ($p = 0.000$), el NH₄⁺ en el

CUADRO IV. FLUJO DE EMISIÓN DE ÓXIDO NITROSO EN LOS DÍAS DE MUESTREO ($\mu\text{g N}_2\text{O N/m}^2/\text{h}$).

Muestreo	Promedio flujo $\mu\text{g N}_2\text{O N/m}^2/\text{h}$	Desviación estándar	Error estándar
1	7.61 ^{bc}	3.73	2.15
2	11.34 ^{bc}	4.98	2.87
3	14.91 ^{abc}	2.40	1.38
4	21.36 ^a	3.38	1.95
5	13.01 ^{abc}	2.91	1.68
6	9.66 ^{bc}	2.23	1.29
7	8.71 ^{bc}	0.24	0.14
8	9.11 ^{bc}	5.61	3.24
9	7.08 ^{bc}	3.00	1.73
10	9.08 ^{bc}	2.64	1.52
11	5.99 ^{bc}	3.14	1.81
12	5.90 ^{bc}	2.10	1.21
13	4.12 ^c	1.65	0.95

Muestreo = Días de muestreo de gases. Literales diferentes indican diferencia significativa en las emisiones ($p < 0.000$). Coeficiente de variación de 27 %. $n = 208$ por tratamiento.

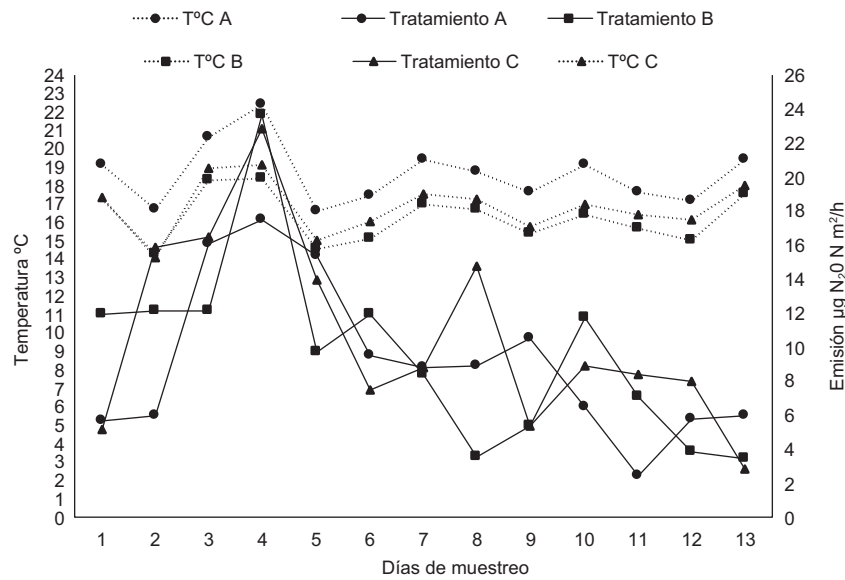


Fig. 2. Temperatura promedio registrada al interior de las cámaras y flujo de emisión de N_2O durante los días de muestreo por tratamiento.

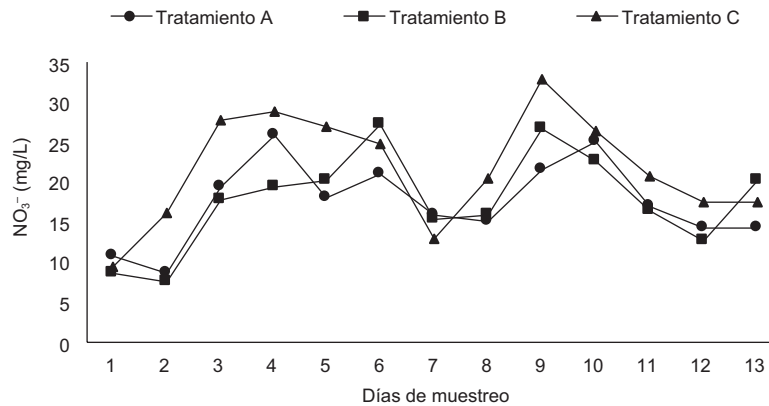


Fig. 3. Concentración de NH_4^+ en el suelo de los tratamientos durante el muestreo de referencia (sin aplicación de tratamientos ni riego) el día 1; muestreo posterior al riego, día 2; muestreo posterior a la simulación de la mancha de orina, día 3 al día 10, y muestreos semanales los días 11, 12 y 13.

suelo aumentó después de la aplicación de la orina, siendo para los tratamientos C, A y B de 29, 24 y 19.5 mg/L respectivamente y en las aumentó después de la aplicación de la orina, siendo para los tratamientos C, A y B de 29, 24 y 19.5 mg/L respectivamente y en general se observó que el amonio fue variable en todos los días de muestreo (**Fig. 3**).

Yang et al. (2015) indican que las altas emisiones de N_2O fueron coincidentes con la alta disponibilidad de N (NH_4^+) debido a la fertilización. En el presente estudio el incremento de NH_4^+ a partir del valor inicial fue debido al N presente en la orina que se aplicó el

tercer día, y se observó que los tratamientos A y C en el cuarto día presentaron un pico de emisión seguido por una disminución. Asimismo, en el noveno día los tratamientos B y C presentaron un pico de emisión seguido por una disminución después del pico (**Fig. 3**).

El contenido inicial de NO_3^- en suelo fue de 19, 18.75 y 13 mg/L, para los tratamientos A, B y C respectivamente (**Fig. 4**). Se incrementó a partir de la segunda fecha de muestreo sin presentar diferencia significativa entre tratamientos ($p = 0.163$) y muestreos ($p = 0.114$). Esto concuerda con lo reportado por Dobbie et al. (1999) y Dobbie y Smith (2003), en

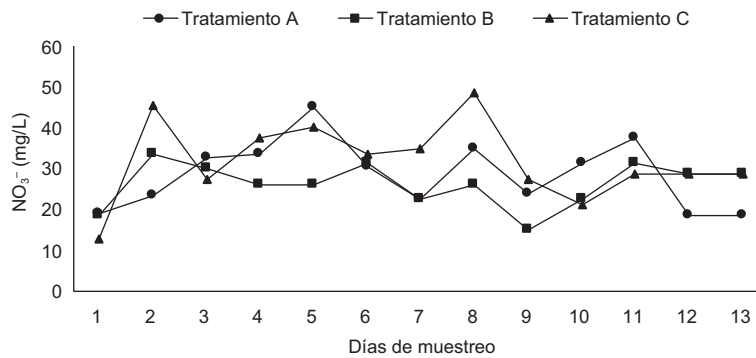


Fig. 4. Concentración de NO₃⁻ en el suelo de los tratamientos durante el muestreo de referencia (sin aplicación de tratamientos ni riego), el día 1, muestreo posterior al riego, día 2, muestreo posterior a la simulación de la mancha de orina, día 3 al día 10 y muestreos semanales los días 11, 12 y 13.

referencia a los factores que afectan las emisiones de N₂O (humedad del suelo y las concentraciones de N mineral). Por su parte Yang et al. (2015) afirman que la mayor disponibilidad de NH₄⁺ y NO₃⁻ y alta humedad conducen a un aumento general de la actividad de nitrificación y desnitrificación que resulta en mayor emisión de N₂O, mientras que a menor cantidad de N mineral y relativamente menor humedad del suelo, se podría inhibir la producción de N₂O.

pH del suelo

El pH inicial del suelo fue de 6.7, 6.6 y 6.6 para los tratamientos A, B y C, respectivamente y presentó variaciones entre los días de muestreo ($p = 0.000$) pero no entre tratamientos ($p = 0.967$). En este experimento, el tratamiento B presentó un descenso significativo en el pH a partir de la segunda fecha de muestreo. El pH aumentó a partir del tercer día de muestreo (**Fig. 5**). En ese sentido, Williams y Haynes (1994) indican que la hidrólisis de la urea es rápida, con 80 a 90 % de la urea hidrolizada en 48 h.

Durante la conversión se producen iones de hidróxido (OH⁻), por lo que el pH del suelo aumenta hasta 8 en los primeros días después de la deposición de orina (Haynes y Williams 1992). En el presente trabajo se obtuvo un comportamiento similar al presentar el primer pico de pH a las 48 h después de la primera aplicación de orina.

Relación entre el flujo de emisión de N₂O-N, los parámetros ambientales y el suelo

El **cuadro V** muestra la relación positiva entre el flujo de emisión de N₂O y la humedad del suelo ($r = 0.569$, $p < 0.001$). Los datos son compatibles con los obtenidos en los Países Bajos, donde Velthof y Oenema (1995) mostraron que los flujos más altos ocurrían cuando el suelo estaba húmedo y el contenido de humedad de los poros del suelo excedía el 70 %. Sin embargo, los flujos eran más pequeños durante el periodo seco, cuando la humedad de los poros del suelo de la capa de 0 a 30 cm fue menor al 50 % para todos los sitios. En este trabajo se presentó

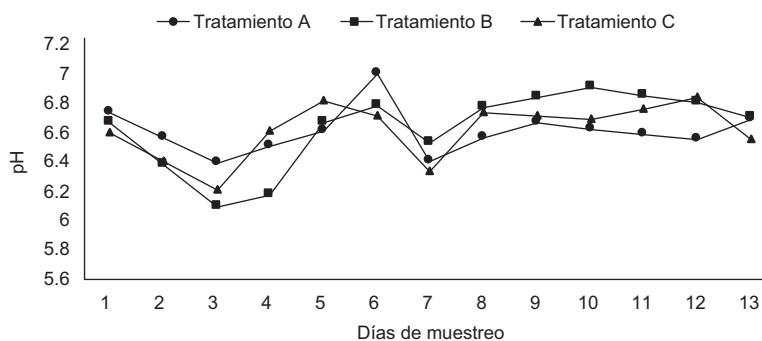


Fig. 5. pH del suelo a través del periodo de muestreo.

CUADRO V. CORRELACIÓN DE PEARSON ENTRE FLUJO DE EMISIÓN DE ÓXIDO NITROSO Y PARÁMETROS AMBIENTALES (TEMPERATURA) Y DE SUELO (NH_4^+ , NO_3^- , HUMEDAD Y pH).

	Flujo de óxido nitroso	NH_4^+	NO_3^-	Temperatura	Humedad
Flujo de óxido nitroso					
NH_4^+	0.296 0.068				
NO_3^-	0.380 < 0.017	0.092 0.576			
Temperatura (°C)	0.303 0.061	0.145 0.380	- 0.247 0.130		
Humedad (%)	0.569 < 0.000	- 0.071 0.669	0.501 < 0.001	- 0.105 0.524	
pH	- 0.416 < 0.008	0.179 0.276	- 0.166 0.312	- 0.412 < 0.009	- 0.525 < 0.001

NH_4^+ : amonio, NO_3^- : nitrato, temperatura: °C, humedad: %.

una relación positiva con el flujo de N_2O y NO_3^- ($r = 0.38$, $p = 0.01$). Álvarez et al. (2012) y Cosentino et al. (2013) observaron una correlación positiva entre la disponibilidad de N inorgánico y las emisiones de óxido nitroso. Por el contrario, se observó una correlación negativa entre el flujo de N_2O y el pH del suelo ($r = -0.41$, $p < 0.05$), mismos datos que mostraron Van der Weerden et al. (1999), en un estudio efectuado con enzimas desnitrificadoras, en el cual encontraron una fuerte relación linear negativa entre el pH del suelo y la tasa de emisión de N_2O . En nuestra investigación se observó una tendencia positiva entre el flujo de N_2O y la temperatura ambiental, sin embargo, esta no fue significativa ($r = 0.3$, $p = 0.06$). Las tasas de nitrificación y desnitrificación aumentan a medida que se incrementa la temperatura en ciertos rangos (Dalal et al. 2003), por lo que la emisión de N_2O pudo haber aumentado por el incremento de temperatura. En relación con los parámetros del suelo, se encontró una correlación positiva entre la humedad del suelo y los nitratos ($r = 0.501$, $p < 0.00$), mientras Dalal et al. (2003) mencionan que al limitarse la difusión de oxígeno en el suelo se da lugar al proceso de desnitrificación, ya que este es un proceso anaeróbico. La producción de N_2O en los suelos es un proceso complejo controlado directa e indirectamente por parámetros edafoclimáticos como el pH, la temperatura y el contenido de agua, la textura y la estructura de los agregados del suelo (Liu et al. 2015, Shi et al. 2016).

CONCLUSIONES

La inclusión de *Leucaena leucocephala* en la dieta de bovinos no influyó sobre la emisión de N_2O debido a la concentración de urea presente en el parche de orina al simular el sistema silvopastoril gramínea-leguminosa arbórea en la época de secas, en el trópico seco. No obstante, en los muestreos el flujo de emisión de N_2O se correlacionó de manera positiva con la humedad del suelo y con los días de aplicación de urea a través de la simulación del parche de orina.

Los sistemas silvopastoriles en el trópico presentan versatilidad en el manejo y en las condiciones de suelo y climatológicas. Por ello, para poder obtener un factor de emisión local, es necesario realizar un mayor número de mediciones debido a que la mencionada versatilidad influyen en la emisión final del óxido nitroso.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece al proyecto 6451/2022CIB “Medición de la emisión del óxido nitroso como gas efecto invernadero en la época de lluvias, a partir del parche de orina de bovinos y valor económico ambiental del sistema silvopastoril: gramínea-leguminosa”, de la Secretaría de Investigación y Estudios Avanzados de la Universidad Autónoma del Estado de México, por el financiamiento de la investigación.

REFERENCIAS

- Alonso J. (2011). Los sistemas silvopastoriles y su contribución al medio ambiente. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola* 45 (2), 107-115.
- Álvarez C., Costantini A., Álvarez C.R., Alves B.J.R., Jantalia C.P., Martellotto E.E. y Urquiaga S. (2012). Soil nitrous oxide emissions under different management practices in the semiarid region of the Argentinian Pampas. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 94, 209-220. <https://doi.org/10.1007/s10705-012-9534-9>
- Barneze A.S., Mazzetto A.M., Zani C.F., Misselbrook T. y Cerri C.C. (2014). Nitrous oxide emissions from soil due to urine deposition by grazing cattle in Brazil. *Atmospheric Environment* 92, 394-397. <http://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2014.04.046>
- Barreras C.G. (2020). Diseño e implementación de un sistema de liberación prolongada de urea en un cultivo de trigo. Tesis de Doctorado. Universidad de Sonora. Hermosillo, Sonora, México, 144 pp.
- Bertram J.E., Clough T.J., Condon L.M., Sherlock R.R. y O'Callaghan M. (2010). Hippuric acid effect on N₂O emissions from cow urine patches at a range of soil temperatures. *Memorias. 19th World Congress of Soil Science. Soil Solutions for a Changing World. Brisbane, Australia, 1-6 Agosto 2010. DVD.*
- Braker G. y Gonrad R. (2011). Diversity, structure, and size of N₂O-producing microbial communities in soil – What matters for their functioning? *Advances in Applied Microbiology* 75, 33-70. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-387046-9.00002-5>
- Braker G., Schwarz J. y Conrad R. (2010). Influence of temperature on the composition and activity of denitrifying soil communities. *FEMS Microbiology Ecology* 73 (1), 134-148. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2010.00884.x>
- Butterbach-Bahl K., Baggs E.M., Dannenmann M., Kiese R. y Zechmeister-Boltenstern S. (2013). Nitrous oxide emissions from soil: how well do we understand the processes and their controls?. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*. 368 (1621), 201300122. <http://doi.org/10.1098/rstb.2013.0122>
- CATIE (2015). Medición de óxido nitroso en pasturas de Costa Rica. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza [en línea]. <https://www.catie.ac.cr/catie-noticias/943-miden-oxido-nitroso-en-pasturasde-costa-rica.html> 16/09/2021
- Chen X.B. y Gomes M.J. (1992). Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives. An overview of the technical details. International Feed Research Unit. Rowett Research Institute, Aberdeen, Reino Unido, 21 pp.
- Clough T.J., Kelliher F.M., Sherlock R.R. y Ford, C.D. (2004). Lime and soil moisture effects on nitrous oxide emissions from a urine patch. *Soil Science Society of America Journal* 68 (5), 1600-1609. <https://doi.org/10.2136/sssaj2004.1600>
- Cosentino V.R.N., Figueiro S.A. y Taboada M.A. (2013). Hierarchy of factors driving N₂O emissions in non-tilled soils under different crops. *European Journal of Soil Science* 64, 550-557. <https://doi.org/10.1111/ejss.12080>
- Dalal R.C., Wang W., Robertson G.P. y Parton W.J. (2003). Nitrous oxide emissions from Australian agricultural lands and mitigation options. *Australian Journal of Soil Research* 41 (2), 165-195. <https://doi.org/10.1071/SR02064>
- Dangal S.R.S., Tian H., Xu R., Chang J., Canadell J.G., Ciais P., Pan S., Yang J. y Zhang B. (2019). Global nitrous oxide emissions from pasturelands and rangelands: Magnitude, spatiotemporal patterns, and attribution. *Global Biogeochemical Cycles* 33, 200-222. <https://doi.org/10.1029/2018GB006091>
- Davidson E.A. (1992). Sources of nitric oxide and nitrous oxide following wetting of dry soil. *Soil Science Society of America Journal* 56 (1), 95-102. <https://doi.org/10.2136/sssaj1992.03615995005600010015x>
- Di H.J. y Cameron K.C. (2002). The use of a nitrification inhibitor, dicyandiamide (DCD), to decrease nitrate leaching and nitrous oxide emissions in a simulated grazed and irrigated grassland. *Soil Use and Management* 18, 395-403. <https://doi.org/10.1111/j.1475-2743.2002.tb00258.x>
- Dijkstra J., Oenema O., van Groenigen J.W., Spek J.W., van Vuuren A.M. y Bannink, A. (2013). Diet effects on urine composition of cattle and N₂O emissions. *Animal* 7 (S2), 292-302. <https://doi.org/10.1017/S1751731113000578>
- Dobbie K. y Smith K. (2003). Nitrous oxide emission factors for agricultural soils in Great Britain: the impact of soil water filled pore space and other controlling variables. *Global Change Biology* 9 (2), 204-218. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2486.2003.00563.x>
- Dobbie K., McTaggart I. y Smith K. (1999). Nitrous oxide emissions from intensive agricultural systems: variations between crops and seasons, key driving variables, and mean emission factors. *Journal of Geophysical Research: Atmospheres* 104 (D21), 26891-26899. <https://doi.org/10.1029/1999JD900378>
- FAO (2018). Soluciones ganaderas para el cambio climático. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura [en línea]. <https://www.fao.org/3/I8098ES/i8098es.pdf> 07/10/2021
- FAO (2019). GLEAM 2.0 – Evaluación de las emisiones de gases de efecto invernadero y su potencial de mitigación. Modelo de Evaluación Ambiental de la

- Ganadería Mundial (GLEAM). Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura [en línea]. <http://www.fao.org/gleam/results/es/23/09/2021>
- Haynes R.J. y Williams P.H. (1992). Changes in soil solution composition and pH in urine affected areas of pasture. *Journal of Soil Science* 43 (2), 323-334. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2389.1992.tb00140.x>
- Hernández-Tapia N., Salinas-Ruiz J., Saynes-Santillán V., Ayala-Rodríguez J.M., Hernández-Rosas F. y Velasco-Velasco J. (2019). Emisión de N₂O, CO₂ y NH₃ a partir de estiércol de bovinos con diferente porcentaje de proteína cruda en la dieta. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental* 35 (3), 597-608. <https://doi.org/10.20937/rica.2019.35.03.07>
- IPCC (2013). *Climate Change 2013 – The physical science basis - Working group I contribution to the fifth assessment report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge University Press, Nueva York, EUA, 1535 pp. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324>
- Kelly K.B., Phillips F.A. y Baigent R. (2008). Impact of dicyandiamide application on nitrous oxide emissions from urine patches in northern Victoria. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 48 (2), 156-159. <https://doi.org/10.1071/EA07251>
- Koops J.G., van Beusichem M.L. y Oenema O. (1997). Nitrous oxide production, its source and distribution in urine patches on grassland on peat soil. *Plant and Soil* 191, 57-65. <https://doi.org/10.1023/A:1004285221368>
- Liu R., Hayden H., Suter H., He J. y Chen D. (2015). The effect of nitrification inhibitors in reducing nitrification and the ammonia oxidizer population in three contrasting soils. *Journal of Soils and Sediments* 15, 1113-1118. <https://doi.org/10.1007/s11368-015-1086-6>
- Mogge B., Kaiser E.A. y Munch J.C. (1999). Nitrous oxide emissions and denitrification N-losses from agricultural soils in the Bornhöved lake region: Influence of organic fertilizers and land-use. *Soil Biology and Biochemistry* 31 (9), 1245-1252. [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(99\)00039-5](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(99)00039-5)
- Murgueitio R.E., Rosales B.R., Flores E.M., Chará O.J. y Rivera H.J. (2016). Es posible enfrentar el cambio climático y producir más leche y carne con sistemas silvopastoriles intensivos. *Ceiba: A Scientific and Technical Journal* 54 (1), 23-30. <https://doi.org/10.5377/ceiba.v54i1.2774>
- Naranjo J. F., Cuartas C. A., Murgueitio E., Chará J. y Barahona R. (2012). Balance de gases de efecto invernadero en sistemas silvopastoriles intensivos con *Leucaena leucocephala* en Colombia. *Livestock Research for Rural Development* 24 (8), 1-11.
- Núñez P., Demanet R., Matus F. y Mora M.L. (2007). Grazing management, ammonia and nitrous oxide emissions: A general view. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* 7 (3), 61-99.
- Núñez P.A., Medina R., García L., Caridad del R.J. y Asencio J. (2019). Emisiones de óxido nitroso (N₂O) desde un suelo pastoreado con bovinos en pasto Tanner (*Brachiaria radicans Napper*) de República Dominicana. *Memorias. 55 Annual Meeting Caribbean Food Crops Society*. Punta Cana, República Dominicana. 7 - 12 Julio, 2019. pp.19 - 27.
- Núñez-Ramos P.A., García-Lagombra G., Caridad del Rosario J. y Asencio-Cuello, V. J. (2021). Mediciones de óxido nitroso (N₂O) en suelo manejado bajo pastoreo con bovinos de leche. *Terra Latinoamericana* 39, 1-12. e813. <https://doi.org/10.28940/terra.v39i0.813>
- Rendón-Huerta J.A., Pinos-Rodríguez J.M. y Kebreab E. (2018). Animal nutrition strategies to reduce greenhouse gas emissions in dairy cattle. *Acta Universitaria* 28 (5), 34-41. <https://doi.org/10.15174/au.2018.1766>
- Rochette P. y Janzen H.H. (2005). Towards a revised coefficient for estimating N₂O emissions from legumes. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 73, 171-179. <https://doi.org/10.1007/s10705-005-0357-9>
- SAGARPA (1999). *Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio*. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural y Pesca. Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999. Diario Oficial de la Federación. 06 de diciembre de 1999.
- SAS (2002). *Statistical Analysis System versión 9.0*. SAS Institute, Cary. Carolina del Norte, EUA.
- Selbie D.R., Buckthought L.E. y Shepherd M.A. (2015). The challenge of the urine patch for managing nitrogen in grazed pasture systems. *Advances in Agronomy* 129, 229-292. <http://doi.org/10.1016/bs.agron.2014.09.004>
- Shakoor A., Shakoor S., Rehman A., Ashraf F., Abdullah M., Shahzad S.M., Farooq T.H., Ashraf M., Manzoor M.A., Altaf M.M. y Altaf M.A. (2021). Effect of animal manure, crop type, climate zone, and soil attributes on greenhouse gas emissions from agricultural soils-A global meta-analysis. *Journal of Cleaner Production* 278. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.124019>
- Shi X., Hu H., He J., Chen D. y Suter H. (2016). Effects of 3,4-dimethylpyrazole phosphate (DMPP) on nitrification and the abundance and community composition of soil ammonia oxidizers in three land uses. *Biology and Fertility of Soils* 52, 927-939. <https://doi.org/10.1007/s00374-016-1131-7>
- Signor D. y Pellegrino C.E. (2013). Nitrous oxide emissions in agricultural soils: A review. *Pesquisa Agro-*

- pecuaria Tropical 43 (3), 322-338. [en línea] <https://revistas.ufg.br/pat/article/view/19871> 07/10/2021.
- Steel R.G.D., y Torrie J.H. (1980). Principles and procedures of statistics. 2da ed, McGraw-Hill International, Nueva York, EUA, 1960 pp.
- Valadares R.F.D., Broderick G.A., Valadares S.C. y Clayton M.K. (1999). Effect of replacing alfalfa silage with high moisture corn on ruminal protein synthesis estimated from excretion of total purine derivatives. *Journal of Dairy Science* 82 (12), 2686-2696. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(99\)75525-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(99)75525-6)
- Van der Weerden T.J., Sherlock R.R., Williams P.H. y Cameron K.C. (1999). Nitrous oxide emissions and methane oxidation by soil following cultivation of two different leguminous pastures. *Biology and Fertility of Soils*. 30, 52-60. <https://doi.org/10.1007/s003740050587>
- Velthof G.L. y Oenema O. (1995). Nitrous oxide fluxes from grassland in the Netherlands: II. Effects of soil type, nitrogen fertilizer application and grazing. *European Journal of Soil Science* 46 (4), 541-549. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2389.1995.tb01350.x>
- Venterea R.T., Burger M. y Spokas K.A. (2005) Nitrogen oxide and methane emissions under varying tillage and fertilizer management. *Journal of Environmental Quality* 34 (5), 1467-1477. <https://doi.org/10.2134/jeq2005.0018>
- Whitehead D.C. (1995). Grassland nitrogen. CABI Publishing, Wallingford, Reino Unido, 416 pp.
- Williams D.L., Ineson P. y Coward P.A. (1999). Temporal variations in nitrous oxide fluxes from urine-affected grassland. *Soil Biology and Biochemistry* 31 (5), 779-788. [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(98\)00186-2](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(98)00186-2)
- Williams P.H. y Haynes R.J. (1994). Comparison of initial wetting pattern, nutrient concentrations in soil solution and the fate of N-15-labelled urine in sheep and cattle urine patch areas of pasture soil. *Plant Soil* 162, 49-59. <https://doi.org/10.1007/BF01416089>
- WMO (2020). WMO greenhouse gas bulletin: The state of greenhouse gases in the atmosphere based on global observations through 2019. World Meteorological Organization. Boletín No. 16 [en línea]. https://library.wmo.int/doc_num.php?explnum_id=10437 13/10/2021
- Yang X., Chen H., Gong Y., Zheng X., Fan M. y Kuzyakov Y. (2015). Nitrous oxide emissions from an agropastoral ecotone of northern China depending on land uses. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 213, 241-251. <https://doi.org/10.1016/J.AGEE.2015.08.011>