

Evaluación de métodos de amonificación mediante hidrólisis de urea sobre el valor nutritivo de paja de trigo

Evaluation of ammoniation methods by means of urea hydrolysis upon the nutritional value of wheat straw

**Bravo^{1,2}, R.D., Arelovich^{1,2,3}, H.M., Storm¹, A.C.,
Martínez¹, M.F. y Amela¹, M.I.**

Departamento de Agronomía, Universidad Nacional del Sur
Comisión de Investigaciones Científicas, Provincia de Buenos Aires (CIC)
CERZOS- CONICET

Resumen

El objetivo del trabajo fue contrastar dos metodologías de amonificación de paja de trigo (PT) y determinar su efecto sobre parámetros de digestión y productividad animal. Se utilizaron soluciones acuosas de urea en contacto directo (amonificación húmeda) o no (amonificación seca) con el sustrato. Se condujeron 3 experimentos. *Experimento I*: Nueve rollos de PT (316 kg de peso medio), fueron asignados a los tratamientos: Control (PT-Con), sin adición de urea; amonificación seca (PT-AS) y amonificación húmeda (PT-AH). El tratamiento PT-Con se mantuvo sin cobertura; para PT-AS a ambos lados de cada rollo se colocaron recipientes plásticos conteniendo una solución de urea de 28,6% P/V. Los rollos con sus correspondientes recipientes se cubrieron con polietileno sellando el contorno para evitar fugas de NH₃. Para PT-AH se aplicaron a capas sucesivas de PT una solución de urea (13,3% P/V), en el interior de un portarrollo de 3 m de diámetro cuyo piso, paredes y techo fueron cubiertas con film de polietileno. Luego de 45 días de exposición, muestras extraídas de los rollos se secaron a 60°C, se molieron a 2 mm y se determinó MS, FDN, FDA, PB, cenizas y DIVMS (digestibilidad *in vitro* de la MS). *Experimento II*: doce borregos Corriedale (22,5 kg PI) fueron alojadas en corrales individuales y recibieron diariamente PT-Con o PT-AH *ad libitum*, más 400 g de un suplemento (23% PB) 3 veces por semana por 45 días. En dos períodos de 7 días cada uno se midió el consumo voluntario de MS, la ganancia de peso y se extrajeron muestras de sangre para evaluar hematocrito, proteína total, urea, creatinina y glucosa en sangre. *Experimento III*: se midió la desaparición de la fibra en PT-Con y PT-AH en dos novillos Aberdeen Angus provistos de cánulas ruminales que recibieron 6 kg de PT más 1 kg de harina de girasol diariamente. En los mismos se incubaron bolsitas de dacrón conteniendo PT-Con y PT-AH a intervalos entre 0 y 98 h post-ingesta. Para ambos sustratos se calculó: degradabilidad potencial (DegP), fracción soluble (a), fracción insoluble potencialmente degradable (b), la tasa de degradación de b (c) y la degradabilidad efectiva (DegE). En el *Experimento I*, PT-AH resultó 3,2 veces superior en el contenido de N y 42% en DIVMS, respecto del promedio de los tratamientos PT-Con y PT-AS que no mostraron diferencias significativas entre sí. En el estudio con ovinos (*Experimento II*), el consumo voluntario se vio

Recibido: septiembre de 2008

Aceptado: junio de 2009

1. Departamento de Agronomía, Universidad Nacional del Sur. hugoarel@criba.edu.ar

2. Comisión de Investigaciones Científicas, Provincia de Buenos Aires (CIC).

3. CERZOS- CONICET

incrementado 22% ($p < 0,05$) y la GDP media resultó 2,2 veces superior ($p = 0,0503$) para PT-AH. No se detectaron diferencias significativas en los parámetros sanguíneos, sin embargo la urea mostró una tendencia no significativa a incrementarse con PT-AH. En el *Experimento III* no se hallaron diferencias significativas en ninguna de las variables para los parámetros de degradabilidad de la MS. La fracción "a" resultó muy baja en ambos tratamientos, pero exhibió un incremento no significativo para PT-AH al igual que la DegE. Con esta tendencia, los resultados de degradación parecen concordar con la respuesta productiva observada en ovinos. En consecuencia, la amonificación húmeda a partir de urea mejora la calidad de reservas forrajeras con elevado contenido de fibra. Al mismo tiempo, esta mejora en el valor nutritivo influye positivamente sobre la utilización del forraje por el animal y su respuesta productiva.

Palabras clave: paja de trigo, amonificación, urea.

Summary

The objective was to compare two ammoniation methods for wheat straw (PT), and determine its impact upon digestion parameters and animal production. Aqueous solutions of urea were used in direct contact (wet ammoniation) or not (dry ammoniation) with the substrate. Three experiments were conducted. *Experiment I:* Nine PT bales (316 kg mean weight) were assigned to the treatments: Control (PT-Con), no urea addition; dry ammoniating (PT-AS) and wet ammoniation (PT-AH). The treatment PT-Con was kept without cover; for PT-AS plastic containers with a urea solution (28.6% w/v) was placed at both sides of each bale. Both, bales and containers were packed by a polyethylene film to avoid NH_3 loss. For PT-AH, successive layers of PT were sprayed with a urea solution (13.3% w/v) within a hay bale holder of 3-m diameter, with its floor, walls and roof sealed by a polyethylene film. After 45 d exposition, bale samples from each treatment were dried at 60° C and ground at 2 mm, to determine DM, NDF, ADF, CP, ashes and IVDMD (*in vitro* DM digestibility). *Experiment II:* twelve Corriedale young ewes (22,5 kg LW) housed in individual pens were fed PT-Con or PT-AH *ad libitum* daily, plus 400 g of a 23% CP supplement 3 times weekly for 45 d. In each of two 7-d periods, voluntary DM intake and average daily gain (ADG) were measured. Blood samples were also obtained to evaluate hematocrit, total protein, urea, creatinine and glucose. *Experiment III:* fiber disappearance was measured for PT-Con and PT-AH using two ruminally cannulated Aberdeen Angus steers which received 6 kg of PT plus 1 kg of sunflower meal daily. Dacron bags containing PT-Con and PT-AH were incubated at regular intervals between 0 and 98 h after feeding. Potential DM degradability (DegP), soluble fraction (a), potentially degradable insoluble fraction (b), degradation rate of b (c), and effective degradability (DegE) were calculated for both substrates. For *Experiment I*, PT-AH resulted 3.2 times larger in CP content and 42% higher for IVDMD than the average of treatments PT-Con and PT-AS, which did not show significant differences between themselves. In the sheep study (*Experiment II*), the DM voluntary intake increased by 22% ($p < 0.05$) and ADG resulted 2.2 times larger for PT-AH than PT-Con ($p = 0.0503$). No differences were found in blood parameters, however, a trend for increased urea mean value was shown in PT-AH. In the *Experiment III* no differences between treatments were found for DM degradability parameters. The fraction "a" resulted very low for both treatments, however a non-significant increase was observed for PT-AH, similarly to DegE. Considering this trend, the degradability results would agree with the productive response of sheep. Consequently, because of better nutritional value, wet ammoniation with urea is an efficient method for improvement of preserved high fiber forages. Simultaneously, this improvement in nutritive value increases animal forage utilization as well as production response.

Key words: wheat straw, ammoniation, urea.

Introducción

Uno de los mayores problemas que afronta la ganadería en zonas semiáridas es la escasez de precipitaciones, lo que limita el crecimiento de pastizales naturales y/o pasturas cultivadas. De esta manera, se presenta un déficit en cantidad y calidad de forraje para bovinos y ovinos a pastoreo. Una forma de incrementar la disponibilidad y utilización de alimentos, en áreas marginales, es el desarrollo de alternativas de utilización de forrajes de baja calidad (FBC). Los FBC son universalmente abundantes y de bajo costo, y bajo ciertas condiciones pueden ser utilizados eficientemente por el sistema digestivo de los rumiantes, transformándolos en productos de utilidad para el hombre como carne, leche y fibra.

Los FBC, principalmente los residuos de cosecha, son la principal fuente alimentación de rumiantes en países en desarrollo (Sahoo et al., 2002; Liu et al., 2008) y juegan un rol de trascendencia en alimentación estratégica en países industrializados (Lalman et al., 2006; Block et al., 2006). Ejemplos de la disponibilidad regional de FBC son: pasto llorón diferido, agropiro diferido, pastizales nativos, residuos de cosecha (pajas de cereales), cultivos anuales diferidos (sorgos forrajeros), henos de plantas maduras (avena, moha) y residuos agro-industriales (cubiertas del grano de avena, cáscaras de girasol).

Los FBC son materiales con elevado contenido de componentes estructurales de la planta, y la celulosa, hemicelulosa y lignina son las principales entidades químicas de dichos componentes. Sus proporciones relativas dependen de la especie vegetal, su estado de madurez, condiciones agroclimáticas y de la parte u órgano de la planta del cual se trate (Van Soest, 1994). Estos componentes expresados en la fracción fibra detergente neutro (FDN), sumados al contenido de proteína bruta (PB), afectan la digestibilidad y el consumo voluntario. A su vez la combinación de consumo voluntario y la digestibilidad definen precisamente la calidad de un forraje (Coleman y Moore, 2003). De esta manera, las limitantes a la productividad animal a partir

de FBC, por su efecto directo sobre el consumo voluntario y la digestibilidad, son el contenido bajo de PB y elevado de FDN.

Existen diversas metodologías para mejorar la digestibilidad y el consumo de los FBC, las que se pueden dividir en dos grupos: las que modifican algunas características del forraje y las que proveen nutrientes críticos suplementarios. En el primer grupo se incluyen tratamientos físicos (molido, pelleteado, irradiación, presión de vapor), químicos (NaOH, NH₃ anhidro, etc) y microbiológicos (Streeter y Horn, 1980; Leng, 1987; Ramalho Ribeiro, 1991; Sundstol et al., 1993). La segunda alternativa se refiere a la provisión de nutrientes en forma suplementaria, fundamentalmente nitrógeno (N). Esto mejora la competencia de microorganismos fibrolíticos a nivel ruminal haciendo así más eficiente la utilización de los FBC (Leng, 1987; Arelovich et al., 1993; Carro et al., 1999; Arelovich, 2004; Arroquy et al., 2004).

En la Universidad Nacional del Sur se han conducido una diversidad de experimentos para mejorar la eficiencia utilización de los FBC por rumiantes (Laborde et al., 1985; Arelovich et al., 1987; Arelovich et al., 1992; Arelovich et al., 1993, Rodríguez et al., 1995; Arelovich et al; 1996; Arelovich et al., 2000; Laborde et al., 2001). Estos experimentos inicialmente se fundamentaron en el tratamiento alcalino con NaOH y posteriormente en el desarrollo de estrategias de suplementación proteica.

La metodología de tratamiento químico de los FBC de mayor difusión práctica es probablemente la incorporación al forraje de NH₃ gaseoso anhidro (Lalman et al., 2006; Lardy y Bauer, 2008). Esta estrategia aprovecha el efecto hidrolizante del NH₃ sobre los enlaces químicos entre lignina y polisacáridos estructurales, aumentando la accesibilidad de las enzimas celulolíticas del rumen a dichos componentes de la pared celular (Ramalho Ribeiro, 1991; Ventura et al., 2002). Además se produce un incremento del contenido de PB como consecuencia de la fijación del NH₃ a tejidos vegetales.

Sin embargo, el NH_3 gaseoso es un agente cáustico y su manipulación implica riesgos tanto para el aplicador como para el medio ambiente. De esta manera, la urea podría sustituirlo como fuente de NH_3 mediante su hidrólisis a partir de ureasas microbianas y/o vegetales en presencia de agua. El NH_3 generado de esta forma reacciona con el agua de los tejidos vegetales para formar NH_4OH y cierta cantidad de gas amoniacal, provocando un aumento en el pH (Ørskov, 1990; Brown, 1993), que a su vez promueve cambios químicos en la fracción fibrosa.

Diversos estudios prueban el efecto de los tratamientos alcalinizantes sobre la solubilización de la hemicelulosa y la disolución de los enlaces químicos entre componentes de la pared celular (Elizondo Espinoza, 1998; Souza et al., 2001; Rodríguez et al., 2002; Ventura et al., 2002; Brown y Kunkle, 2003; Rodríguez et al., 2004). Adicionalmente, cabe destacar el efecto fungistático y bactericida que presenta el material vegetal tratado con amoníaco sin importar el origen del mismo (Rodríguez et al., 2002; Brown y Kunkle, 2003).

La suplementación proteica de los FBC incrementa la tasa de digestión, el consumo de forraje y la respuesta animal (Laborde et al., 2001, Arelovich et al., 1992). Sin embargo, dado el costo y muchas veces baja disponibilidad de suplementos proteicos, es de interés científico y económico explorar aspectos relativos a la amonificación de los FBC como alternativa a la suplementación o reemplazo parcial de la misma. La literatura científica reporta una diversidad de trabajos que exhiben el efecto de la amonificación sobre la calidad del forraje y productividad animal mediante la aplicación directa de NH_3 gaseoso. Sin embargo, se encuentra mucho menos información disponible sobre alternativas indirectas de generación de NH_3 a partir de urea.

El objetivo del presente trabajo fue contrastar dos metodologías de amonificación aplicadas a paja de trigo y determinar el impacto de la paja de trigo modificada sobre parámetros de digestión y productividad animal.

Materiales y Métodos

El trabajo se llevó a cabo en el campo experimental Argerich (38° 46' 36" S; 62° 35' 55" O) y el Laboratorio de Nutrición Animal del Departamento de Agronomía de la Universidad Nacional del Sur. Se trató paja de trigo (PT) mediante métodos de amonificación seca y húmeda partiendo de concentraciones de urea experimentadas previamente (Elizondo Espinoza, 1998; Ventura et al., 2002), con modificaciones y ajustes pertinentes a los objetivos de este trabajo. Se condujeron tres experimentos cuyas metodologías se describen a continuación.

Experimento I. Evaluación de procesos de amonificación seca y húmeda

Se seleccionaron nueve rollos de PT de 316 kg de peso promedio. Los rollos fueron asignados a los siguientes tratamientos: (a) Control (PT-Con), como testigo sin la adición de urea, (b) Amonificación seca (PT-AS) y (c) Amonificación húmeda (PT-AH).

Los rollos correspondientes al tratamiento PT-Con fueron pesados y colocados sobre pallets sin ningún tipo de cobertura. Se repitió el mismo procedimiento para PT-AS, se colocaron a la par y a ambos lados de cada rollo dos recipientes plásticos conteniendo una solución con 20 kg de urea en 70 litros de agua (28,6% P/V), utilizándose así aproximadamente 63 g de urea por cada kg de paja. Inmediatamente se cubrieron los rollos y los recipientes conteniendo la solución de urea con film de polietileno sellando todo el contorno, para evitar fugas de NH_3 . Para el tratamiento de PT-AH se preparó una solución con 8 kg de urea en 60 litros de agua (13,3 % P/V) y se aplicaron 300 ml de solución de urea/kg de paja lo que resultó en 40 g urea por kg de paja, es decir un tratamiento con solución de urea al 4%. Mediante el agregado de las soluciones la humedad del material tratado se elevó a 30,8%. A modo de molde contenedor se utilizó un portarrollo cilíndrico de 3 m de

diámetro. En su interior se colocó un film de polietileno cubriendo el piso y las paredes, dejando el sobrante hacia los bordes. Seguidamente se volcó una camada de 10 kg de pasto entero a la cual se adicionó 3.000 ml de la solución de urea. Se procedió a mezclar y compactar manualmente el contenido, e inmediatamente se agregó una nueva camada de paja siguiendo el mismo procedimiento hasta completar un total de 150 kg de PT tratada. Finalmente el sobrante del film de polietileno sobre los bordes se extendió empaquetando la parte superior, y se le colocó un peso para fijarlo y mantener la hermeticidad, para prevenir fugas de NH_3 . Finalmente, se retiró el portarollo para ser utilizado en las otras repeticiones.

Después de 45 días de exposición, se descubrieron los materiales correspondientes a los tratamientos PT-AS y PT-AH, y se realizó un muestreo de cada repetición. Las muestras se secaron en estufa de aire forzado a 60 °C hasta peso constante (72 hs), se molieron a 2 mm y se preservaron para posterior análisis químico. Se efectuaron análisis de materia seca (MS), fibra detergente neutro y ácido (FDN y FDA), proteína bruta (PB), cenizas totales y digestibilidad *in vitro* de la MS (DIVMS), (AOAC, 1990; Goering y Van Soest, 1970).

El diseño experimental correspondió a un diseño completamente aleatorizado de tres tratamientos con tres repeticiones. Los resultados fueron analizados por ANVA y las diferencias entre medias fueron detectadas mediante el test LSD de Fisher con un nivel de significancia del 5%. A continuación, se condujeron otros dos experimentos condicionados a los resultados obtenidos en el Experimento I.

Experimento II. Evaluación de la productividad animal

Se utilizaron 12 borregas Corriedale (22,5 kg de peso inicial) en corrales individuales, donde recibieron diariamente PT-Con o PT-AH *ad libitum* más 400 g de un suplemento (60:40 harina de girasol y maíz quebrado; 23% PB), tres veces por semana a la misma hora. El objetivo del suministro de un mismo suplemen-

to de base a ambos tratamientos fue garantizar un aporte mínimo de energía y proteína que permitiera diferenciar únicamente los efectos del tratamiento de urea sobre la paja.

La duración del ensayo fue de 45 días. En dos períodos de 7 días cada uno, se midió el consumo voluntario de MS (PT-Con o PT-AH = MS ofrecida – MS rechazada). Se determinó el peso vivo al inicio y final del experimento para establecer por diferencia la ganancia diaria de peso (GDP). Al finalizar el experimento se extrajeron muestras de sangre mediante punción yugular. Dichas muestras fueron enviadas a un laboratorio privado para determinación de hematocrito, proteína total, urea, creatinina y glucosa.

El diseño experimental fue el de un ensayo completamente aleatorizado de dos tratamientos con seis repeticiones. Los resultados fueron analizados por ANVA y la diferencia entre medias fueron detectadas mediante test LSD de Fisher con un nivel de significancia del 5%.

Experimento III. Evaluación de la degradabilidad ruminal de paja de trigo amonificada

Se utilizaron 2 novillos Aberdeen Angus, provistos de una cánula ruminal, para incubar PT-Con y PT-AH a las 0, 3, 6, 9, 12, 18, 24, 30, 36, 48, 72 y 96 horas post-ingesta. Fueron utilizadas bolsitas de Dacrón de 10 x 20 cm (Ankom Technology Corporation, Fairport, USA), conteniendo 5 g MS de muestra molida a 2 mm. Las bolsas fueron introducidas en cada animal por duplicado. Ambos novillos recibieron diariamente 6 kg MS de paja de trigo y 1 kg MS de harina de girasol. Los datos fueron analizados por un programa de computación para estimar las constantes de degradabilidad (Ørskov y McDonald, 1979), ajustándolas a la ecuación no-lineal:

$$\text{DegP} = a + b [1 - e^{-c(t-L)}];$$

donde DegP= degradabilidad potencial, a= fracción rápidamente degradable, b= fracción lentamente degradable, c= tasa de degradación de b y L= tiempo de retardo.

$$\text{DegE} = a + [bc/(c+k)];$$

donde DegE= degradabilidad efectiva (Ørskov y McDonald, 1979) y k= tasa de pasaje.

El diseño experimental correspondió a un *crossover*, donde los duplicados de cada horario y animal se promediaron, y los animales fueron utilizados como repetición para ANVA. En ambos animales se midió el pH del licor ruminal en 4 observaciones durante 24 h. Para los análisis estadísticos de los tres experimentos se utilizó el programa estadístico InfoStat (2008).

Resultados y Discusión

Experimento 1. Efecto de los procesos de amonificación sobre la paja de trigo

El Cuadro 1 muestra las medias obtenidas en el análisis químico para cada fracción analizada. El tratamiento PT-AH resultó altamente efectivo dado que incrementó 3,2 veces el contenido de PB en la paja y 42% el valor de DIVMS. Estos resultados son similares a los reportados tanto para tratamientos de amonificación a partir de NH₃ anhidro gaseoso (Horton y Steacy, 1979; Mann et al.,

1988; Lalman et al., 2006), como para aquellos fundados en la hidrólisis de urea (Hadjipaniyotou, 1982; Makkar y Singh, 1987; Souza et al., 2001). Sin embargo, no se hallaron diferencias en los parámetros evaluados entre PT-Con y PT-AS.

El tratamiento PT-AS no alteró la composición nutricional de la PT por lo cual los materiales PT-Con y PT-AS pueden considerarse como idénticos. Este resultado es contrastante con lo reportado por Ventura et al. (2002) para el procedimiento de amonificación seca. Esta diferencia puede atribuirse a que los citados autores utilizaron micro-fardos en lugar de rollos, y adicionaron ureasa como catalizador de hidrólisis a la solución de urea contenida en un receptáculo por debajo de los fardos. Es posible que la mayor y más rápida generación de NH₃ como consecuencia del agente catalítico, sumada al menor peso y volumen de los micro-fardos utilizados en dicho experimento, haya permitido una mejor expresión del tratamiento de amonificación seca comparado con su efecto nulo en el presente estudio. La Figura 1 compara el contenido de PB y la DIVMS del promedio PT-Con + PT-AS versus PT-AH.

Cuadro 1: Composición de paja de trigo expuesta o no a la acción de NH₃ formado a partir de la hidrólisis de urea en contacto directo (amonificación húmeda) o indirecto con el forraje (amonificación seca).

Table 1: Composition of wheat straw after being or not being exposed to NH₃ action produced by urea hydrolysis in direct (wet ammoniation) or indirect contact (dry ammoniation) with the forage.

Tratamientos	MS	PB	FDN	FDA	Lignina	Cenizas	DIVMS
	%						
PT-Con	89,97 ^a	2,73 ^a	76,88	49,11	6,69	8,26a	34,93a
PT-AS	86,93 ^a	2,75 ^a	77,2	48,94	6,39	7,17b	36,42a
PT-AH	67,57 ^b	8,81 ^b	74,46	50,6	6,53	7,02b	49,85b
EEM	2,33	0,88	0,92	0,39	0,17	0,21	2,14

PT-Con (testigo, sin exposición a amoníaco), PT-AS (amonificación seca) y PT-AH (amonificación húmeda). MS: Materia seca; PB: Proteína bruta; FDN: Fibra detergente neutro; FDA: Fibra detergente ácido; DIVMS: Digestibilidad *in vitro* de la materia seca. EEM= error estándar de la media. ^{a, b} Medias en la misma columna con diferente superíndice difieren (p<0,05).

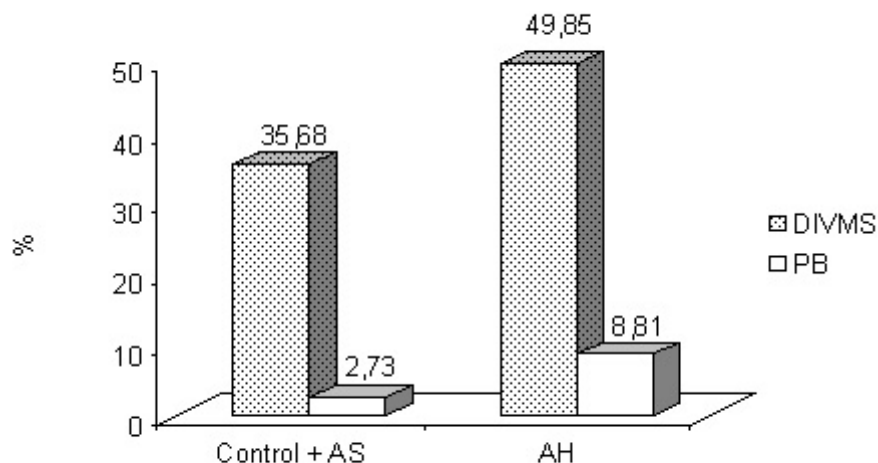


Figura 1: Digestibilidad *in vitro* de la MS (DIVMS) y contenido de PB de la paja de trigo del promedio de los tratamientos PT-Con + PT-AS comparado con PT-AH¹ ($p < 0,05$).

¹PT-Con (sin exposición a amoníaco), PT-AS (amonificación seca) y PT-AH (amonificación húmeda).

Figure 1: Dry matter *in vitro* digestibility (DIVMS) and crude protein (PB) content of wheat straw for the average of PT-Con + PT-AS treatments compared to PT-AH¹ ($p < 0.05$). ¹PT-Con (non exposed to NH_3), PT-AS (dry ammoniation) and PT-AH (wet ammoniation).

No se hallaron cambios en el contenido de fracciones fibrosas en el presente estudio (Cuadro 1). Algunos autores (Elizondo Espinoza, 1998; Souza et al., 2001; Ventura et al., 2002) sugieren que el tratamiento alcalino promueve la solubilización de la hemicelulosa. De ser así, sería de esperar una reducción de la FDN por efecto del tratamiento. Elizondo Espinoza (1998) no encontró cambios significativos en FDN al tratar bagazo de caña con urea, aunque sí lo halló con la aplicación de NaOH. Aunque el contenido de fibra no varíe, la digestibilidad de la misma podría alterarse significativamente. Se observó que en la paja de lino tratada con NH_3 anhidro la digestibilidad cambió de 9,9 a 43,9% y de -0,6 a 37,9% para FDA y FDN, respectivamente, aunque no se observaron incrementos en las fracciones fibrosas para otros residuos de cosecha incluida la PT (Mann et al., 1988). Para soca de sorgo Ventura et al. (2002) también encontraron incrementos en la digestibilidad *in vitro* de la FDN, pero de menor magnitud a lo hallado en paja de lino. El contenido de lignina no parece modificarse como consecuencia del

proceso de amonificación lo que es coincidente con diferentes reportes (Hadjipanayiotou, 1982; Mann et al., 1988; Beck et al., 1992; Souza et al., 2001).

Como en este estudio los valores de FDN no se modificaron, podría asumirse que el consumo voluntario tampoco cambiaría con el tratamiento de amonificación. Sin embargo, al menos teóricamente, el aumento observado en la DIVMS debería acelerar la tasa de vaciado del contenido ruminal y promover así un mayor consumo voluntario. Entonces, este aumento en la digestibilidad debido al tratamiento con urea, y consecuente efecto sobre el consumo, podría indicar más una ruptura de los enlaces existentes entre los carbohidratos estructurales y lignina (Ørskov, 1990; Brown, 1993), que una solubilización de la hemicelulosa.

Animales alimentados con PT-AH recibirían más PB con la ingesta en comparación con el tratamiento PT-Con. Aunque este incremento en la proteína total proviene de NNP, esto posibilitaría que una vaca de cría en condición corporal adecuada consumiendo PT-AH pueda cubrir sus requerimientos de mantenimiento

con este forraje, durante parte de su ciclo productivo (NRC, 2000). Debido a que la PT expuesta al tratamiento de amonificación seca no se diferenció en su composición de PT-Con, los experimentos II y III incluyeron únicamente los tratamientos PT-Con y PT-AH.

Experimentos II y III. Respuesta productiva y degradabilidad ruminal

Los resultados del experimento de alimentación con borregas Corriedale se muestran en la Cuadro 2. El consumo voluntario de MS se incrementó 22% ($p < 0,05$) con el suministro de la paja tratada. Además, para PT-AH la GDP resultó 2,2 veces superior ($p = 0,0503$), lo que puede atribuirse a un aumento en la ingesta de MS digestible (producto de la mayor digestibilidad de la MS consumida). También es probable que el suplemento energético-proteico suministrado a ambos tratamientos haya sido utilizado más eficientemente en PT-AH.

Si bien numerosos estudios prueban los efectos positivos de la amonificación sobre la composición química del forraje, una cantidad menor de ellos evaluó su efecto directo sobre la respuesta productiva de los animales. La

magnitud de esta respuesta dependerá del forraje, del agente alcalinizante utilizado, del grado de procesamiento y del suministro simultáneo o no de suplementos.

Como la composición química y la proporción relativa de componentes estructurales varían entre los FBC, la amonificación producirá resultados distintos. Lalman et al. (2006) indicaron que la amonificación de PT produce un aumento promedio de 3,7 a 9,7% en PB, 38,9 a 48,0% en digestibilidad y 18% de aumento en el consumo voluntario. Estos valores son similares a los hallados en nuestro estudio (Experimentos I y II). Sin embargo, el tratamiento con NH_3 anhidro sobre heno de festuca modificó de 6,6 a 14,8% la PB, de 39,7 a 57,7% la digestibilidad y el aumento en consumo voluntario fue de 36%. En otro ensayo con paja de cebada tratada con urea en solución (Hadjipanayiotou, 1982), se reportaron incrementos en el consumo voluntario, digestibilidad de la fibra y de la MS de 47, 40 y 26%, respectivamente. Horton y Steacy (1979) indicaron que pajas de cereales, y aún diferentes cultivares de las mismas tratados con NH_3 anhidro, presentaron incrementos substanciales en PB, digestibilidad y consumo

Cuadro 2: Respuesta productiva y metabolitos sanguíneos en borregas Corriedale que recibieron paja de trigo con o sin amonificación.

Table 2: Productive response and blood metabolites in young Corriedale sheep receiving ammoniated or not ammoniated wheat straw.

Item	PT-Con ¹	PT-AH ²	EE	p =
Consumo MS (g/d)	402	490	0,25	0,011
GDP (g/d)	24	52	14,13	0,05
Parámetros sanguíneos				
Hematocrito (%)	36,7	36,2	2,95	0,832
Glucosa (mg/l)	517	527	79	0,873
Urea (mg/l)	355	410	68	0,336
Creatinina (mg/l)	15,2	14,8	2,6	0,853
Proteína (g/l)	60,5	62,1	2,5	0,44

¹PT-Con: paja de trigo-control, sin exposición a NH_3 ; ²PT-AH: Paja de trigo tratada mediante amonificación húmeda.

voluntario, pero la mejora de estos parámetros no fue uniforme. Estos autores observaron que la respuesta en consumo siguió el mismo patrón que los cambios en la digestibilidad con incrementos de 6, 12 y 21% para pajas de avena, cebada y trigo, respectivamente. De acuerdo a estos antecedentes la PT parece ser una de los residuos de cultivos cerealeros de mayor respuesta, o al menos más uniforme, a la amonificación.

La amonificación produjo efectos similares a los observados para PT sobre la composición química de residuos de cosecha en otras especies vegetales, con efectos favorables sobre el consumo y la digestibilidad. Algunos ejemplos son paja de lino tratada con NH_3 anhidro (Mann et al., 1988), paja de arroz (Xuan Trach et al., 2001) y bagazo de caña (Elizondo Espinoza, 1998), los dos últimos tratados a partir de la hidrólisis de urea. Esta mejora en el valor nutritivo de los FBC mediante amonificación tendría como objetivo principal la alimentación de categorías animales de bajos requerimientos. De esta manera es destacable el hecho que PT resultó solo inferior a la paja de lino amonificada pero superó a otros FBC tratados en ganancia de peso corporal y deposición de grasa dorsal, tanto en vaquillonas como en vacas de cría (Mann et al., 1988).

Los resultados de la amonificación de los FBC sobre la respuesta animal a partir de la hidrólisis de urea son comparables a los obtenidos con otros tratamientos ampliamente difundidos como, por ejemplo, la aplicación de NaOH. Laborde et al. (1985) mostraron que ovinos que recibían pasto llorón tratado con NaOH prácticamente duplicaron el consumo de MS respecto al tratamiento control. Si bien el tratamiento con NaOH parecería más efectivo para aumentar la digestibilidad (Laborde et al., 1985; Elizondo Espinoza, 1998), su aplicación implica mayores riesgos para el operador, deterioro del equipamiento y contaminación ambiental en comparación a la amonificación a partir de la hidrólisis de urea. Por otra parte, parecería que la concentración de urea a utilizar podría disminuirse en un 50% si se la combina con cal como agente alcalinizante,

mucho más económica que la urea. Así, paja de arroz tratada con urea o urea + cal (3% cal + 2% urea) produjo en bovinos mejoras substanciales en la ganancia de peso y eficiencia de conversión alimenticia (Xuan Trach et al., 2001).

En otro trabajo se halló que el suministro de pasto llorón alcalinizado con NaOH a bovinos también favoreció la productividad animal, aunque la suplementación proteica tuvo efectos similares al tratamiento alcalino, no observándose efectos aditivos entre suplemento y forraje tratado (Arelovich et al., 1987). La disponibilidad de N ruminal es una variable crítica a considerar en la eficiencia de utilización de forrajes de baja calidad. En este sentido el N residual en el material tratado mediante amonificación resulta un aporte considerable como fuente de N no proteico, aunque puede resultar insuficiente. Beck et al. (1992) indicaron que la respuesta productiva a la suplementación con proteína natural resultó superior a la suplementación con energía, aunque el contenido de N residual de la PT excedió los requerimientos de PB. También se encontró que los efectos de la amonificación y suplementación con harina de soja resultaron aditivos sobre el consumo de MO digestible en cabras, con un cambio de mayor magnitud vía amonificación de PT con urea (Abebea et al., 2004). Con fundamento en estos resultados se incorporó a la dieta basal de ambos tratamientos el suplemento energético-proteico descripto.

No se detectaron diferencias entre PT-Con y PT-AH para los parámetros sanguíneos analizados (Cuadro 2). Los valores observados de hematocrito, glucosa y urea en sangre se hallan dentro de intervalos de referencia aceptados como normales (Boyd, 1985; Esh-ratkah et al., 2008). El contenido de proteína en suero sanguíneo fue en promedio 61,3 g/l para ambos tratamientos y resultó ligeramente inferior al intervalo de referencia. La suplementación con proteína protegida a dietas basadas en PT amonificada promovieron un incremento de la proteína en suero sanguíneo (Tiwari et al., 2001).

Los valores de creatinina (15 mg/l promedio de ambos tratamientos) superaron muy levemente los valores de referencia. Esto podría insinuar cierta contribución del tejido tisular en el aporte de aminoácidos como combustible metabólico, que de haber resultado de mayor magnitud estaría asociado a pérdida más que a ganancia de peso corporal como se observó en este estudio.

En el experimento con novillos fistulados, el valor medio de pH= 6,8 se mantuvo dentro de parámetros normales para un adecuado funcionamiento ruminal en ambos tratamientos, con oscilaciones no significativas en los períodos de observación ($p=0,09$; $EE=0,05$). En el Cuadro 3 se detallan los parámetros de degradación de la MS para los tratamientos PT-Con y PT-AH. Si bien no se observaron diferencias para ninguna de las variables estudiadas, la fracción "a" resultó muy baja en ambos tratamientos, pero tendió a crecer al igual que la DegE para PT-AH, lo cual resultó en una tendencia importante aunque estadísticamente no significativa. La degradabilidad ruminal de la MS en los FBC parece ser de menor magnitud cuando se compara el tratamiento de amonificación con el de NaOH. Así, la adición NaOH incrementó tres veces la porción soluble y degradable de la MS y la

FDN en bagazo de caña, superando al tratamiento con urea que solamente aumento en 35% la degradación ruminal de dichos parámetros (Elizondo Espinoza, 1998). En este estudio la DegE para la MS de PT resultó 25% superior en promedio para PT-AH comparado con PT-Con ($p=0,1586$), lo que si bien numéricamente puede considerarse en concordancia con lo observado por Elizondo Espinoza (1998), probablemente debido a la variabilidad entre horarios de muestreo esta tendencia no resultó significativa.

Conclusiones

El proceso de amonificación seca, al menos en las condiciones experimentales de este estudio, no parece apropiado para tratar volúmenes importantes de forraje. La amonificación a partir de la hidrólisis de urea mejoró el valor nutritivo de la PT incrementando el consumo y el aporte adicional de N degradable en rumen. Esto permite mejorar sustancialmente la utilización biológica de la PT y reducir marcadamente los costos de suplementación. Por otra parte, la PT-AH podría destinarse también a cubrir la porción fibrosa en programas intensivos de crecimiento y terminación.

Cuadro 3: Degradación ruminal de la MS de paja de trigo con o sin amonificación en novillos fistulados.
Table 3: Ruminal dry matter degradation of what straw with or without ammoniation in cannulated steers.

Parámetros de degradación ⁽¹⁾	PT-Con ¹	PT-AH ²	EE	p =
a (g/kg)	75,8	114	11,5	0,1427
b (g/kg)	424,5	493,5	3,6	0,523
c (%/h)	0,024	0,034	0,0063	0,3798
L (h)	12,5	15,2	1,87	0,4221
DegE (%)	26,3	35,3	2,9	0,1586

PT-Con: paja de trigo-control, sin exposición a NH_3 ; ²PT-AH: Paja de trigo tratada mediante amonificación húmeda. ⁽¹⁾Fracciones a y b= rápida y lentamente degradable, respectivamente; c= tasa de degradación de b; L = tiempo de retardo. DegE= degradabilidad efectiva para un $Kp = 1,84$ %/h.

Si bien en el tratamiento de amonificación a partir de soluciones de urea algunos autores señalan interacciones entre temperatura ambiente y efectividad del tratamiento (Makkar y Singh, 1987; Souza et al., 2001), es probable que superando los 20 °C solamente tenga trascendencia el período de exposición del material bajo cubierta.

Por el contraste entre los resultados obtenidos y los reportados en la literatura, hay evidencias de que la amonificación a partir de urea desde el punto de vista práctico parece más ventajosa que la amonificación gaseosa. Si se produce pérdida de gas con la aplicación de NH₃ anhidro, se impactará negativamente sobre la digestibilidad y el consumo, y no habrá mejora en la productividad animal (Streeter et al., 1980).

El tratamiento químico de amonificación húmeda debería considerarse en programas de mejora de reservas forrajeras de alto contenido de fibra. Además de PT, es de esperar también cambios favorables en digestibilidad y consumo voluntario al tratar mediante amonificación húmeda otros FBC. La preparación de material henificado con urea a escala productiva puede lograrse mediante asperjado del mismo en la andana previo al enrollado. Por último, la urea, un insumo crítico como fertilizante en agricultura, muestra su versatilidad en la mejora de los FBC.

Bibliografía

- Abebea, G., Merkelb, R.C., Animut, G., Sahlub T. and Goetsch, A.L. 2004. Effects of ammoniation of wheat straw and supplementation with soybean meal or broiler litter on feed intake and digestion in yearling Spanish goat wethers. *Small Ruminant Res.* 51: 37-46.
- AOAC, 1990. Official methods of analysis. Association of official Analytical Chemists. 15th Ed. Washington, D. C.
- Arelovich, H.M., Laborde, H.E., Villalba, J.J., Amela, M.I. and Torrea, M.B. 1992. Effects of nitrogen and energy supplementation on the utilization of low quality weeping lovegrass by calves. *Agricultura Mediterranea*, 122(2):123-129.
- Arelovich, H.M., Owens, F.N., Horn, G.W. and Vizcarra, J.A. 2000. Effects of supplemental zinc and manganese on ruminal fermentation, forage intake and digestion by cattle fed prairie hay and urea. *J. Anim. Sci.* 78:2972-2979.
- Arelovich, H.M., Laborde, H.E., Torrea, M.B. y Degiorgi, I. 1987. Utilización de pasto llorón diferido con tratamiento alcalino y suplementación proteica. *Rev Arg Prod Anim*, 7(3): 229-236.
- Arelovich, H.M., Laborde, H.E., Villalba, J.J. y Torrea, M.B. 1993. Suplementación de paja de trigo en bovinos con avena, urea y harinas de girasol y carne. I. Consumo, digestibilidad y ganancia de peso. *Rev Argentina de Prod Animal*, 13 (1): 15-21.
- Arelovich, H.M., Torrea, M.B., Amela, M.I., De Giorgi, I., Villalba, J.J. y Laborde, H.E. 1996. Suplementación de paja de trigo en bovinos con avena, urea y harinas de girasol y carne. *Rev Arg Prod Anim*, 16(1): 1-12.
- Arelovich, H.M. 2004. Programas de suplementación proteica para bovinos. *Rev Agrouns*, 1 (2): 16-20.
- Arroquy, J.I., Cochran R.C., Wickersham, T.A., Llewellyn, D.A., Titgemeyer, E.C., Nagaraja T.G. and Johnson, D.E. 2004. Effects of type of supplemental carbohydrate and source of supplemental rumen degradable protein on low quality forage utilization by beef steers. *Anim. Feed Sci. Tech.*, 115: 247:263.
- Beck, T.J., Simms, D.D., Cochran, R.C., Brandt, Jr, R.T., Vanzant, E.S. and Kuhl, G.L. 1992. Supplementation of ammoniated wheat straw: performance and forage utilization characteristics in beef cattle receiving energy and protein supplements. *J. Anim. Sci.*, 70:349-357
- Block, H.C., Dubeski, P.L., McCartney, D.H. and Ohama, A.J. 2006. Review: The composition and availability of straw and chaff from small grain cereals for beef cattle in western Canada. *Can.J. Anim. Sci* 86: 443-455.
- Boyd, J.W. 1985. The interpretation of serum biochemistry test results in domestic animals. *Vet Clin Pathol* 13, 7-14.
- Brown, W.F. and Kunkle, W.E. 2003. Improving the feeding value of hay by anhydrous ammonia treatment. University of Florida, IFAS Extension Bull., 888, 17pp.
- Brown, W.F. 1993. Amoniación de heno y suplementación de energía y proteína para el ganado de carne. *Memorias de la Conferencia Internacional sobre Ganadería en los Trópicos*. Universidad de Florida: 39-47.
- Carro, M.D., López S., Valdés C y Ranilla M.J. 1999. Efecto de la suplementación nitrogenada

- sobre la fermentación ruminal *in vitro* de forrajes deficientes en nitrógeno. Archivos Zootecnia 48:295-306.
- Coleman, S.W. and Moore, J.E. 2003. Feed quality and animal performance. Field Crops Res., 84:17-29.
- Elizondo Espinoza, I. 1998. Evaluación de tratamientos alcalinos sobre la calidad nutricional de subproductos lignocelulósicos. Tesis de Doctorado en Ciencias Pecuarias, Universidad de Colima, Colima, México, 114 pp.
- Eshratkhan, B., Sadaghian, M., Khajeye, M., Ahmadi, H. and Mostafavi, H. 2008. Evaluation of Non-Electrolytes Normal Values in Blood of Makuei Sheep Breed. J. Anim. and Vet. Adv. 7 (3): 316-318.
- Goering, H.R. and Van Soest, P.J. 1970. Forage fiber analysis: apparatus, reagents, procedures and some applications. Agric. Handb. 379. Agric. Res. Serv. USA, Washington D.C.
- Hadjipanayiotou, M. 1982. The effect of ammoniation using urea on the intake and nutritive value of chopped barley straw. Grass and Forage Science 37: 89-93.
- Horton, G.M.J. and Steacy, G.M. 1979. Effect of anhydrous ammonia treatment on the intake and digestibility of cereal straws by steers. J. Anim. Sci. 48: 1239/1249.
- InfoStat. 2008. InfoStat versión 2008. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba.
- Laborde, H.E., Degiorgi, I.E., Bóo, R.M y Nizovoy, D.E. 1985. Tratamiento *in situ* con hidróxido de sodio en pasto llorón diferido. 1. Efecto sobre la digestibilidad y consumo voluntario. Rev Arg Prod Anim, 5(3-4): 139-144.
- Laborde, H.E., Amela, M.I., Torrea, M.B., Brevedan, R. and Arelovich, H.M. 2001. Sustentability of agricultural systems through protein supplementation of low quality roughages. En: *Ecosystems and Sustainable Development*, III, Y. Villacampa, C.A.
- Lalman, D., Horn, G., Huhnke, R. and Redmon, L.A. 2006. Ammoniation of low quality roughages. Oklahoma State University Coop. Ext. Service, PSS-2243, 6 pp.
- Lardy, G. and Bauer, M. 2008. Ammoniation of low-quality roughages. North Dakota Agricultural Exp.Sta. NDSU DS-9-97, 4 p.
- Leng, R.A. 1987. Drought feeding strategies theory and practice. Penambul Books, Armidale. Australia 138 pp.
- Liu, H., Jiang, G.M., Zhuang, H.Y. and Wang, K.J. 2008. Distribution, utilization structure and potential of biomass resources in rural China: With special references of crop residues. Renewable and Sustainable Energy Rev., 12:1402-1418.
- Makkar, H.P.S. and Singh, B. 1987. Kinetics of urea hydrolysis and binding of ammonia to wheat straw during ammoniation by urea. J. Dairy Sci., 70: 1313-1317.
- Mann, M.E., Cohen, R.D.H., Kernan, J.A., Nicholson, H.H., Christensen, D.A. and Smart, M.E. 1988. The feeding value of ammoniated flax straw, wheat straw and wheat chaff for beef cattle. Anim. Feed Sci. Tech. 21: 57-66.
- National Research Council (NRC). 2000. Nutrient Requirements of Beef Cattle. National Academy of Sciences. Seventh Revised Edition. Washington, D. C.
- Ørskov, E.R. 1990. Nutrición de los rumiantes: principios y práctica. Editorial Acribia, Zaragoza, España, 119 p.
- Ørskov, E.R. and McDonald, I.M. 1979. Estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurement weighted according to rate of passage, J. Agric. Sci, Cambridge. 96: 499-503
- Ramalho Ribeiro, J.M.C. 1991. Treatment of straws. CIHEAM- Options Méditerranéennes, Série Séminaires. 16:55-60
- Rodríguez, B.T., Arelovich, H., Villalba, J. and Laborde, H. 1995. Dietary supplementation with zinc and manganese improves the efficiency of nitrogen utilization by lambs. J. Anim. Sci. 37:1233 (Abst.).
- Rodríguez N., Araujo O, González B y Santos R. 2002. Efecto de la amonificación con urea sobre el pH y la presencia de microorganismos en heno de *Brachiaria humidicola* (Rendle) Schweick. Rev. Científica Univ. Zulia, 12: 572-574.
- Rodríguez N., Araujo O y González B. 2004. Efecto de la adición de urea sobre la composición química y digestibilidad *in vitro* de la materia seca de heno de *Brachiaria humidicola* (Rendle) Schweick cosechado a diferentes edades. Archivos Latinoamericanos de Producción Animal, 12 (2):52-58.
- Sahoo, B., Saraswat, M.L., Haque, N. and Khan, MX. 2002. Influence of chemical treatment of wheat straw on carbon-nitrogen and energy balance in sheep. Small Ruminant Res., 44: 201-206.
- Souza, O, Cañeque Martínez y Guía Lopez, E. 2001. Efecto del tratamiento sobre el valor nutritivo de la paja tratada por urea. Archivos de Zootecnia 50: 343-353.

- Streeter, C.L. and Horn, G.W. 1980. The use of crop residues as feedstuffs for ruminant animals. Agric. Exp. Sta. Oklahoma State Univ. Res. Rep. P-795.
- Streeter, C.L., Horn, G.W. and Batchelder, D.G. 1980. Feeding Value of Ammoniated Wheat Straw for Yearling Steers. Oklahoma Agric. Exp. Sta. Anim. Sci. Res. Rep. MP-105: 76-79.
- Sundstol, F., Mgheni, D.M. and Pedersen, I. 1993. Recent findings on upgrading of the feeding value of straw by chemical and biological methods. *In*: Proc. of the Intern. Conf. on Increasing Livestock Production Through Utilization of Local Resources, October 18-22, 1993, Beijing, China., p. 122-130.
- Tiwari, C.M., Chandramoni, A.S., Jadhao S.B., Gowda, S.K. and Khan, M.Y. 2001. Studies on blood biochemical constituents and rumen fermentation in growing buffalo calves fed ammoniated straw-based rations supplemented with different protein sources. *Animal Feed Sci. Tech.*, 89: 119-130.
- Van Soest, P. 1994. Nutritional ecology of the ruminant. 2nd Edition, Cornell University Press, Ithaca, NY, USA, 476 pp.
- Ventura, M., Barrios, A., Morales, I., Toro, C., Barreto, K. y Noguera, F. 2002. Efecto de la amonificación seca sobre el valor nutricional de la soca de sorgo (*Sorghum bicolor*). *Rev. Científica Univ. Zulia, Venezuela*, 12: 513-516.
- Xuan Trach, N., Mo, M. and Dan, C.X. 2001. Effects of treatment of rice straw with lime and/or urea on responses of growing cattle. *Livestock Res. Rural Development*, 13: 5p. <http://www.cipav.org.co/lrrd/lrrd13/5/trach135.htm>