

# Resultados de la amonificación con urea sobre la degradabilidad ruminal de *Hemarthria altissima* y *Cynodon nlemfuensis* en bovinos

Martínez, E.V.<sup>1</sup>; Slanac, A.L.<sup>2</sup>; Kucseva, C.D.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Cátedra de Nutrición y Alimentación, <sup>2</sup>Cátedra de Fisiología, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNNE, Sargento Cabral 2139, Corrientes (3400), Argentina. <sup>3</sup>INTA, Colonia Benítez (Chaco), Argentina.  
E-mail: alslanac@vet.unne.edu.ar

## Resumen

**Martínez, E.V.; Slanac, A.L.; Kucseva, C.D.: Resultados de la amonificación con urea sobre la degradabilidad de *Hemarthria altissima* y *Cynodon nlemfuensis* en bovinos. Rev. vet. 27: 2, 93-97, 2016.** El objetivo del ensayo fue evaluar el efecto del agregado de urea sobre la degradabilidad de la materia seca en henos de *Hemarthria altissima* cv bigalta (pasto clavel) y *Cynodon nlemfuensis* (pasto estrella). Los trabajos se realizaron desde marzo de 2011 a marzo de 2012 en la Estación Experimental Colonia Benítez del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria-INTA (Chaco, Argentina). Muestras del material de ambos vegetales fueron deshidratadas y luego amonificadas con diferentes porcentajes de urea (0; 2; 4; 6%). Luego, según la técnica de “*suspensión in situ*”, fueron introducidas en el rumen de cuatro novillos cruza cebú de 3,5 años de edad y 420 kg de peso vivo, a través de una cánula ruminal implantada en el ijar izquierdo. Para la estimación de la cinética de digestión de la materia seca (MS), se utilizó el modelo propuesto por Orskov *et al.* (1980). La degradabilidad efectiva se calculó de acuerdo a la ecuación de los mismos autores. La cinética de la degradación de *H. altissima* no arrojó diferencias significativas. En cambio, para *C. nlemfuensis* se registraron diferencias para la degradabilidad ruminal de MS a tasas del 4% ( $p=0,01$ ) y 2% ( $p=0,02$ ), en ambos casos con presentación de efectos cúbico y cuadrático. Se concluye que la degradabilidad ruminal de la MS del heno de *H. altissima* no sufrió cambios con el agregado de urea, en cambio, se registró mayor degradabilidad en aquellos henos de *C. nlemfuensis* que recibieron urea a razón de 20 y 40 g por kg de pasto seco.

**Palabras clave:** bovino, urea, amonificación, degradabilidad, *Hemarthria altissima*, *Cynodon nlemfuensis*.

## Abstract

**Martínez, E.V.; Slanac, A.L.; Kucseva, C.D.: Results of the ammoniation with urea on the degradability of *Hemarthria altissima* and *Cynodon nlemfuensis* in cattle. Rev. vet. 27: 2, 93-97, 2016.** The objective was to evaluate the effect of adding urea on the degradability of the dry matter in hays *Hemarthria altissima* cv. bigalta (grass carnation) and *Cynodon nlemfuensis* (star grass). At the Experimental Station INTA (Colonia Benítez, Chaco, Argentina), between march 2011 and march 2012, samples of plant material were obtained, dehydrated and ammonified with different percentages of urea (0; 2; 4; 6%), according to the technique of “*in situ suspension*” proposed by Orskov *et al.* (1980). Aliquot of grass were introduced into the rumen of four steers zebu (3,5 years old, 420 kg liveweight) with rumen cannula in the left flank, also is calculated effective degradability using the equation by the same authors to estimate the kinetics of digestion of dry matter. The kinetics of degradation carnation grass showed no statistical difference. However in star grass, it was observed differences for the degradability rate of 4% ( $p=0.01$ ) and 2% ( $p=0.02$ ), presenting a quadratic and cubic effect in both cases.

**Keywords:** cattle, urea ammoniation, degradability, *Hemarthria altissima*, *Cynodon nlemfuensis*.

## INTRODUCCIÓN

Los pastizales del nordeste argentino, de pobre calidad, poseen bajo porcentaje de proteína, alto con-

tenido de pared celular lignificada -casi indigerible- y un marcado déficit en carbohidratos solubles. La concentración proteica alcanza valores máximos en otoño y mínimos en invierno y verano, con valores intermedios en primavera <sup>12</sup>. Tales pastizales incluyen algunas especies invernales cuya tasa diaria de crecimiento en

dicho período (junio, julio y agosto) es de 6-7 kg de materia seca (MS)/ha/día<sup>17</sup>.

Constituidos mayoritariamente por gramíneas, el heno de los pastizales zonales se caracteriza por sus bajos valores proteicos y escasa digestibilidad, debido a que las plantas en general, y en especial las gramíneas, presentan una importante tendencia a disminuir la digestibilidad de la materia seca producida, en la medida que avanza el estado de madurez, debido a alteraciones en la anatomía y composición de los tejidos<sup>15</sup>. El rumen se carga de sustancias no degradables, disminuyendo el consumo total de forraje, lo cual afecta preponderantemente a las categorías vacunas con mayores requerimientos.

Uno de los mayores problemas que afronta la ganadería en épocas frías 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 en pastoreo. Tales forrajes poseen elevado contenido de componentes estructurales de la planta, como celulosa, hemicelulosa y lignina. Sus proporciones relativas dependen de la especie vegetal, estado de madurez, condiciones agroclimáticas y de la parte u órgano de la planta<sup>24</sup>.

El alto contenido de fibra detergente neutro (FDN), sumado a la baja proporción de proteína bruta (PB) del forraje, reducen la digestibilidad y el consumo voluntario. A su vez, la combinación de consumo voluntario y digestibilidad definen precisamente la calidad de un forraje<sup>7</sup>. De esta manera, las limitantes a la productividad animal ejercidas por las fibras de baja calidad, son los reducidos contenidos PB y las elevadas tasas de FDN, que generan efectos negativos sobre el consumo voluntario y la digestibilidad.

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. La conservación de gramíneas en forma de heno como estrategia para transferir el excedente de forrajes desde la época de lluvia a la época seca, es una práctica común en nuestra región, la cual permite paliar el déficit nutricional normalmente observado en los rebaños bovinos durante la época seca. Sin embargo, el bajo valor nutricional característico de los henos obtenidos a partir de gramíneas tropicales, por su alto grado de lignificación y bajo contenido proteico, determina en gran medida los bajos niveles productivos característicos de los sistemas de producción del nordeste argentino durante el invierno.

El mejoramiento del valor nutritivo del heno es una preocupación constante, a punto tal que en diferentes países se estudian métodos físicos, biológicos y químicos que permitan mejorar su aporte de nutrientes, la digestibilidad y el consumo. Algunos investigadores señalan que el propósito fundamental de estos tratamientos es aumentar la solubilidad de la fibra, la lignina y otros componentes estructurales, al romper las uniones que generan cohesión a medida que las pajas maduran<sup>19</sup>.

Para mejorar la digestibilidad y el consumo voluntario de los forrajes de baja calidad, existen metodologías que pueden dividirse en dos grupos: las que modifican algunas características del forraje (molido, pelleteado) y las que proveen nutrientes críticos suplementarios, fundamentalmente nitrógeno, que mejora la competencia de microorganismos fibrolíticos a nivel ruminal, tornando más eficiente la utilización de los forrajes de baja calidad<sup>2</sup>.

La amonificación es uno de los tratamientos químicos utilizados para proveer nutrientes nitrogenados. Como fuentes de amoníaco se han empleado diferentes compuestos químicos entre los cuales se encuentran amonio anhidro (NH<sub>3</sub>), hidróxido de amonio (NH<sub>4</sub>OH) y urea<sup>11</sup>. Tales compuestos nitrogenados promueven cambios en la estructura de los pastos, principalmente en su fracción fibrosa, generando aumentos de su valor nutritivo<sup>19</sup>.

El amoníaco anhidro es un gas que se almacena bajo presión en forma líquida. Entre los fertilizantes nitrogenados posee la mayor concentración de N<sub>2</sub> (82%), por lo cual permite menor cantidad para vehicular la misma dosis, además de requerir menor mano de obra en comparación con otros fertilizantes<sup>18</sup>. Una vez aplicado, se fija rápidamente como ión amonio (NH<sub>4</sub>) en el complejo de intercambio del suelo<sup>21</sup>. El efecto residual permite que el cultivo lo asimile de acuerdo a sus necesidades, lo cual representa una ventaja con respecto a los fertilizantes sólidos, cuya aplicación no siempre puede realizarse en el momento más apropiado<sup>8</sup>.

El NH<sub>4</sub> se comercializa como gas licuado, requiriendo ser almacenado en cilindros a alta presión<sup>5</sup>. Para el uso agrícola -como fertilizante dador de nitrógeno- debe ser inyectado a presión en el suelo, con equipos especializados. El NH<sub>4</sub>OH, también conocido como amoníaco acuoso, es un producto líquido a presión atmosférica, compuesto de amonio disuelto y fijado en agua en concentración del 30%. Se almacena en sitios seguros, en envases plásticos tapados<sup>5</sup>.

La urea, de fórmula CO(NH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>, es una sustancia blanca y cristalina, que se desempeña como fertilizante sólido granulado soluble en agua, conteniendo 46% de nitrógeno. Se la utiliza comúnmente en la fertilización de cultivos y campos, como fuente indirecta de amoníaco<sup>5</sup>. Se produce sintéticamente combinando amoníaco y CO<sub>2</sub>. Al descomponerse, la urea genera amoníaco por acción de la ureasa, enzima presente en muchos materiales vegetales.

En Argentina el uso de soluciones de urea, a pesar de su accesibilidad y bajo costo, ha quedado restringido a ensayos realizados en centros de investigación y universidades. Quizás las dificultades para lograr uniformidad en el humedecimiento del material, evitar la proliferación de hongos en los henos debido a la elevada humedad o la ausencia de un paquete tecnológico de fácil aplicación para los productores, hayan ocasionado la baja utilización de tan prometedor práctica para los sistemas de producción de rumiantes.

La amonificación es el proceso por el cual el amoníaco se convertido en amonio por acción de bacterias (*Bacillus*, *Clostridium*, *Serratia*) u hongos (*Alternaria*, *Aspergillus*, *Penicillium*). Es la estrategia que aprovecha el efecto hidrolizante del amoníaco sobre los enlaces existentes entre la lignina y los polisacáridos estructurales (celulosa, hemicelulosa, pectinas), aumentando la disponibilidad de materia orgánica potencialmente utilizable por los microorganismos ruminales<sup>25</sup>. Además produce un incremento del contenido de PB como consecuencia de la fijación del NH<sub>3</sub> a tejidos vegetales.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto del agregado de urea sobre la degradabilidad de la materia seca en henos de *Hemarthria altissima* cv. bigalta (pasto clavel) y *Cynodon nlemfuensis* (pasto estrella).

## MATERIAL Y MÉTODOS

Los ensayos se llevaron a cabo en la Estación Experimental Colonia Benítez del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Provincia del Chaco, Argentina.

Las muestras del material vegetal fueron obtenidas por corte manual, a 25 cm del suelo e inmediatamente deshidratadas por exposición solar durante cuatro días. Luego se colocaron en bolsas de polietileno, fueron pesadas (peso húmedo) y luego introducidas en bolsas de papel para su desecación en estufa (72 horas a 65°C con circulación forzada de aire).

Finalizada esta etapa se pesó nuevamente la muestra y se estimó el porcentaje de MS por diferencia de peso antes y después de la colocación en estufa, tras haber registrado al menos tres pesajes constantes. Posteriormente se efectuó la amonificación, para la cual el heno fue adicionado con urea a razón de 0, 20, 40 y 60 g por cada kg de pasto seco. Se llenaron bolsas plásticas con el heno cortado hasta formar una capa de 25 mm de grosor rociada uniformemente con la mezcla urea-agua. El tratamiento 0% consistió solamente en el agregado de agua.

Las bolsas fueron cerradas herméticamente. Transcurrido 45 días de almacenamiento se procedió al secado y molienda de las muestras, para obtener un tamaño de partículas no mayor de 1 mm y así favorecer su digestión ruminal.

Se utilizaron 4 novillos cruza cebú de 3,5 años de edad y 420 kg de peso, provistos de cánula ruminal en el ijar izquierdo. Los animales poseían similares características fenotípicas y estaban clínicamente sanos, vacunados y desparasitados acorde al manejo sanitario habitual. Fueron mantenidos con pastura natural y un suplemento mineral (12% Ca, 8% P y microelementos vehiculizados en sal común) dispuestos a voluntad en bateas.

Se utilizó la técnica de "suspensión in situ" de bolsas de dacrón de 9,5 x 18 cm con una porosidad de 50 µm, con los diferentes sustratos (pastos) en su interior<sup>16</sup>. Se colocaron aproximadamente 5 g de material seco de los distintos tipos de pastos en cada bolsa. Di-

chas bolsas se colocaron en el rumen. Previamente se las sumergió en un recipiente con agua fría durante 15 min para que adquirieran humedad, luego fueron introducidas secuencialmente a las 96; 72; 48; 24; 12; 6; 3 y 0 horas, y retiradas a un mismo tiempo e introducidas nuevamente en recipiente con agua fría, para detener la actividad bacteriana.

Para la estimación de la cinética de digestión de MS se utilizó un modelo oportunamente propuesto<sup>16</sup>:  $p = a + b(1 - e^{-ct})$ , donde p: degradabilidad de la MS al tiempo t; a: fracción de la MS rápidamente disponible (FRDMS); b: fracción degradable (FDMS); t: tiempo de incubación y c: tasa de degradación de la MS. Se calculó además la degradabilidad efectiva de acuerdo a la ecuación de los mismos autores  $p = a + [(b \cdot c) / (c + kp)]$  donde p es la degradabilidad efectiva (DE %), a, b y c son los mismos de la ecuación anterior y kp es la tasa de pasaje (0,02/h).

Se empleó un diseño experimental completamente aleatorizado donde se observó el efecto del tratamiento sobre los diferentes henos. A su vez se incubaron en dos animales, los que representaron repeticiones verdaderas. El análisis estadístico de la degradación de la materia seca se efectuó con el programa SAS V 9.2 (2010)<sup>22</sup>, las medias se compararon por el test de Tukey con un grado de significancia del 5%.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al analizar los resultados obtenidos de la cinética de degradabilidad ruminal de la materia seca de *H. altissima* (Tabla 1), no se evidenciaron diferencias significativas atribuibles a los distintos porcentajes de urea empleados (niveles de amonificación). La degradación, según tiempo de incubación y proporción de urea (Tabla 2), reveló una tendencia a ser estadísticamente diferente en la bolsa introducida a las 3 horas (p=0,06), con efecto cuadrático. A pesar de que no se hallaron cambios en las distintas fracciones de *H. altissima*, la

**Tabla 1.** Degradabilidad ruminal de MS de *H. altissima* a diferentes porcentajes de tratamientos con urea.

parámetro	tratamiento (% de urea)				EE	p
	0%	2%	4%	6%		
A (%)	47,55	44,68	39,76	49,77	2,57	0,209
B (%)	12,48	16,52	17,44	21,06	5,82	0,184
C (%)	39,95	48,80	42,80	29,16	3,28	0,180
KD (%)	0,525	0,101	0,079	0,504	0,28	0,601
LAG (hora)	7,157	3,166	3,254	4,460	2,76	0,766
DR(%) 2%	56,76	58,30	53,71	62,17	3,93	0,657
DR(%) 4%	54,90	56,28	51,37	60,48	4,15	0,562
DE (%)	60,04	61,21	57,21	70,83	3,28	0,180

EE: error estándar; p: probabilidad; A: fracción soluble; B: fracción de degradación lenta; C: tasa de degradación de B; KD: tasa de degradación; LAG: tiempo de inicio de la degradación; DR: degradación ruminal; DE: degradabilidad efectiva.

**Tabla 2.** Degradabilidad ruminal de MS de *H. altissima* a diferentes tiempos de incubación y tratamiento.

h	tratamiento (% de urea)				EE	p	ef.
	0%	2%	4%	6%			
0	41,77	45,25	39,00	51,96	3,74	0,262	
3	45,91	44,12	40,27	50,13	1,42	0,060	Y
24	55,55	61,28	58,97	63,57	9,16	0,930	
48	57,92	67,95	62,53	58,09	5,53	0,630	
96	56,22	59,22	65,98	63,83	2,48	0,185	

h: horas de incubación; EE: error estándar; p: probabilidad; ef.: efecto; Y: efecto cuadrático.

**Tabla 3.** Degradabilidad ruminal de MS de *C. nlemfuensis* a diferentes porcentajes de tratamientos con urea.

parámetro	tratamiento (% de urea)				EE	p	ef.
	0%	2%	4%	6%			
A (%)	49,06	39,55	46,77	48,78	3,50	0,384	
B (%)	13,75	18,61	9,80	21,33	3,73	0,309	
C (%)	37,18	41,83	43,41	35,87	2,41	0,262	
KD (%)	0,544	0,033	0,120	0,053	0,22	0,462	
LAG (hora)	6,431	9,586	3,778	4,077	1,56	0,197	
DR(%) 2%	61,47	51,24	55,47	52,01	1,06	0,023	Z-Y
DR(%) 4%	60,49	48,06	54,58	53,68	0,95	0,010	Z-Y
DE (%)	62,81	58,16	56,58	64,12	2,42	0,262	

EE: error estándar; p: probabilidad; ef.: efecto; A: fracción soluble; B: fracción de degradación lenta; C: tasa de degradación de B; KD: tasa de degradación; LAG: tiempo de inicio de la degradación; DR: degradación ruminal; DE: degradabilidad efectiva; Y: efecto cuadrático; Z: efecto cúbico.

**Tabla 4.** Degradabilidad ruminal de MS de *C. nlemfuensis* a diferentes tiempos de incubación y tratamiento.

h	tratamiento (% de urea)				EE	P	ef.
	0%	2%	4%	6%			
0	43,29	37,43	51,29	41,74	6,91	0,611	
3	45,21	38,80	43,08	44,75	0,1	0,056	Y
24	62,17	52,05	57,12	58,68	1,19	0,034	Z
48	55,62	49,49	55,32	54,83	1,36	0,122	
96	60,30	62,46	50,66	65,97	2,65	0,086	Z

h: horas de incubación; EE: error estándar; p: probabilidad; ef.: efecto; Y: efecto cuadrático; Z: efecto cúbico.

degradabilidad efectiva mostró pequeños aumentos en algunos tratamientos con urea, con tendencia a ser diferente a las 3 horas de incubación.

Algunos autores postulan que el tratamiento alcalino promueve la solubilización de la hemicelulosa<sup>23,25</sup>. De ser así, debería ocurrir una reducción de las porciones estructurales por efecto del tratamiento. Al tratar bagazo de caña con urea, otro autor no encontró cambios significativos en FDN, aunque si los halló con la aplicación de NaOH<sup>9</sup>. En coincidencia con otros reportes, el contenido de lignina no parece modificarse como consecuencia de la amonificación<sup>3,23</sup>.

En contraposición con investigaciones que demuestran que la amonificación provoca disminución de FDN y aumento del valor nutritivo del pasto estrella<sup>4</sup>, en el presente trabajo la respuesta no fue clara con respecto a la utilidad de la urea para mejorar la digestibilidad de la MS. Probablemente podrían obtenerse resultados más claros realizando ensayos que incluyan otras fracciones de la misma.

En cambio, para *C. nlemfuensis* (Tabla 3), los resultados obtenidos de la cinética de degradabilidad ruminal de MS señalaron que solamente hubo diferencia significativa para la degradabilidad a una tasa del 2% (p=0,023), con efectos cúbico y cuadrático. En mayor medida, las diferencias se revelaron a una tasa de pasaje del 4% (p=0,010), respondiendo también a efectos cúbico y cuadrático en los distintos niveles de urea (0; 2; 4; 6%).

La degradación según tiempo de incubación y tratamiento con urea (Tabla 4), a la hora 24 resultó ser estadísticamente diferente (p=0,034), con efecto cúbico. En cambio, las correspondientes a las horas 3 y 96 presentaron tendencia a ser diferentes (p=0,056 y 0,086 respectivamente), con efecto cuadrático para la hora 3 y efecto cúbico para la hora 96.

Las diferencias estadísticas en la degradabilidad ruminal a distintas tasas de pasaje (p=0,023 al 2% y p=0,010 al 4%), indican que en el 4% de inclusión de urea fue donde se observó el valor más alto de degradabilidad con efectos cúbico y cuadrático, aunque dicha tasa fue menor al valor de degradabilidad de las muestras sin tratamiento con urea. Estos resultados se contraponen con los reportados tanto para tratamientos de amonificación a partir de NH<sub>3</sub> anhidro gaseoso<sup>12,14</sup> como para los basados en la hidrólisis de urea<sup>13,23</sup>.

Los resultados aquí obtenidos difieren con los reportados al evaluar el valor nutritivo, el contenido de pared celular y la digestibilidad ruminal del heno de pasto estrella amonificado<sup>26</sup> y también con los obtenidos en ensayos con otras pasturas, al evaluar métodos de amonificación sobre el valor nutritivo de paja de trigo<sup>6</sup>, la composición química del heno de paja de arroz tratado con urea<sup>1,10</sup>, y el efecto de la amonificación con urea sobre los componentes estructurales de la pared celular del heno de *Brachiaria humidicola*<sup>20</sup>.

El uso de urea como tratamiento para mejorar la digestibilidad de la MS de *C. nlemfuensis*, si bien se comportó en la forma esperada incrementando la degradación efectiva, solo lo hizo en un determinado porcentaje de amonificación y con una diferencia no significativa.

En conclusión, se infiere que la degradabilidad ruminal de la MS del heno de *H. altissima* y *C. nlemfuensis* no sufre variaciones significativas con el agregado de urea. Bajo las condiciones en que se realizó el presente ensayo no es posible definir específicamente la respuesta con respecto a los tratamientos ensayados para mejorar la digestibilidad de la MS.

## REFERENCIAS

1. **Arelovich HM, Laborde HE, Acbuman CA, Amela MI, Torrea MB.** 2001. Effects of zinc and monensin on the utilization of a barley alfalfa diet in beef cattle. *J Anim Sci* 79: 293.
2. **Arelovich HM, Laborde HE, Arzadún MJ, Vasquez MG.** 2004. Influence of hay quality and pasture location on performance of beef cattle grazing oats. *Spanish J Agric Res* 2: 53-61.
3. **Beck TJ, Simms DD, Cochran RC, Brandt RT, Vanzant ES, Kuhl GL.** 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.
4. **Bernardis AC, Roig C, Balbuena O, Fernández JA.** 2000. Respuesta de la fertilización nitrogenada en la producción y calidad en *Hemarthria altissima*. *On line: www.iaea.unne.edu.ar*
5. **Botero R.** 2007. La amonificación, una opción artesanal para la conservación y mejoramiento de suplementos utilizados para rumiantes en el trópico (Costa Rica). *On line: www.produccion-animal.com.ar*
6. **Bravo RD, Arelovich HM, Storm AC, Martínez MF, Amela MI.** 2008. Evaluación de métodos de amonificación mediante hidrólisis de urea sobre el valor nutritivo de paja de trigo. *Rev Arg Prod Anim* 28: 179-191.
7. **Coleman SW, Moore JE.** 2003. Feed quality and animal performance. *Field Crops Res* 84: 17-29.
8. **Cortés JJ, Vásquez HA, Macías CJ, González AI.** 2005. Manejo eficiente del amoníaco anhidro en trigo y maíz. *Folleto Técnico* 52/2005, Secret. Agric. Ganad. Sonora, México, 32 p.
9. **Elizondo EI.** 1998. Evaluación de tratamientos alcalinos sobre calidad nutricional de subproductos lignocelulósicos. *Tesis de Doctorado*, Univ. Colima. México, 114 p.
10. **Godoy S, Chicco CF.** 1997. Utilización de la paja de arroz con y sin amonificación en la alimentación de bovinos de carne. *Zoot Trop* 15: 30-50.
11. **Klee GG, Murillo QI.** 1989. Efecto de diferentes concentraciones de amoníaco anhidro en el tratamiento de paja de trigo y de la suplementación proteica y energética en raciones de novillos holandeses. *Agric Técn Chile* 49: 1-8.
12. **Lalman D, Horn G, Huhnke R, Redmon LA.** 2006. *Amoniation of low quality roughages*, Publ. Oklahoma State University, PSS-2243, 6 p.
13. **Mann ME, Cohen RD, Kerman JA, Nicholson HH, Christensen DA, Smart ME.** 1988. The feeding value of ammoniated flox straw, wheat straw and wheat chaff for beef cattle. *Anim Feed Sci Tech* 21: 57-66.
14. **Makkar HP, Singh B.** 1987. Kinetics of urea hydrolysis and binding of ammonia to wheat straw during ammoniation by urea. *J Dairy Sci* 70: 1313-1317.
15. **Mitchell R, Fritz J, Moore K, Moser L, Vogel K, Redfearn D, Wester D.** 2001. Predicting forage quality in Switchgrass and Big Bluestem. *Agron J* 93: 118-124.
16. **Orskov ER, Hovell FD, Mould F.** 1980. Uso de la técnica de la bolsa de nylon para evaluación de los alimentos. *Prod Anim Trop* 5: 195-213.
17. **Pizzio R.** 2003. Herramientas para el manejo del campo natural. *Rev Noticias y Comentarios* 373: 1-4.
18. **Potash & Phosphate Institute.** 1988. *Manual de fertilidad de los suelos*, Publ. of Potash & Phosphate Institute, Norcross, Georgia, USA, 85 p.
19. **Reis RA, Andrade P, Rosa B, Alcalde CR, Jobim CC.** 1995. Efeito da suplementação protéica sobre o valor nutritivo da palha de aveia preta tratada com amonia. *Rev Soc Bras Zoot* 24: 233-241.
20. **Rodríguez RN, Araujo FO, González B, Santos R.** 2002. Efecto de la amonificación con urea sobre el pH y la presencia de microorganismos en heno de *Brachiaria humidicola*. *Rev Cientif Univ Táchira (Venezuela)* XII: 2.
21. **Rodríguez SF.** 1992. *Fertilizantes: nutrición vegetal*, Edit. AGT, México DF, 157 p.
22. **SAS Institute Inc.** 2010. *Guide for personal computers*, Version 9.2, SAS Edition, Cary, North Carolina (USA).
23. **Souza O, Cañete M, Guía LE.** 2001. Efecto del tratamiento sobre el valor nutritivo de la paja tratada con urea. *Arch Zoot* 50: 343-353.
24. **Van Soest PV.** 1994. *Nutritional ecology of the ruminant*, Cornell Univ. Press, Ithaca, NY (USA), 476 p.
25. **Ventura M, Barrios A, Morales I, Toro C, Barreto K, Noguera F.** 2002. Efecto de la amonificación seca sobre el valor nutricional de la soca de sorgo. *Rev Cientif (Fac Agron Univ Zulia, Maracaibo, Venezuela)* 12: 513-516.
26. **Villarreal CM.** 1985. Efecto de la fertilización nitrogenada y la edad de rebrote sobre la producción y algunas características nutricionales del pasto estrella africana (*Cynodon nlemfuensis*). *Tesis Mag. Sc.* Univ. Costa Rica (Turrialba, Costa Rica), 81 p.