











Efecto de la amonificación con urea sobre la calidad nutritiva del heno de *Setaria sphacelata* en bovinos

Navamuel, J.M.¹ ; Aguilar, N.M.A.² ; Koza, G.A.³ ; Slukwa, M.A.⁴ ; Arenhardt, S.S.³ ; Rolón Bruno, M.A.³ ; Calderón Sadlovsky, S.M.³ ; Gándara, L.⁵ 

¹Cátedra Bioestadística, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNNE, Argentina. ²Cátedra de Bienestar Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNNE, Argentina. ³Cátedra de Fisiología, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNNE, Argentina. ⁴Cátedra Manejo y Conservación de Suelos. ⁵Cátedra de Nutrición Animal, Facultad de Ciencias Agrarias, UNNE. Sargento Cabral 2139, Corrientes (3400), Argentina.

✉ juan.navamuel@vet.unne.edu.ar

Resumen

En la región del Nordeste Argentino (NEA), la henificación de gramíneas megatérmicas en estados fenológicos avanzados genera frecuentemente forrajes de baja calidad nutritiva, lo que limita el desempeño productivo de los bovinos. El objetivo del presente ensayo fue evaluar el efecto de la amonificación con niveles crecientes de urea sobre la calidad nutritiva del heno de *Setaria sphacelata* y su impacto en el consumo, la ganancia diaria de peso (GDP) y el nitrógeno ureico en sangre (BUN) de bovinos en crecimiento. Se utilizó heno de *S. sphacelata* de baja calidad (3,96% PB; 81,48% FDN), tratado con urea en base a la materia seca en los niveles 0% (T0-testigo), 3,5% (T1), 7,0% (T2) y 10,5% (T3), con un período de incubación de 28 días. Se evaluó la composición química del heno (n=16 rollos) bajo un diseño completamente aleatorizado. Posteriormente, se realizó un ensayo de alimentación con 8 bovinos (4 terneros de 163 ± 2 kg y 4 novillos de 286 ± 3 kg) bajo un diseño de cuadrado latino 4×4 durante 84 días, midiendo el consumo de materia seca (CMS), la GDP y el BUN. La amonificación incrementó linealmente el contenido de proteína bruta (de 3,96% en T0 a 12,03% en T3; p<0,001), sin afectar significativamente las fracciones fibrosas (FDN, FDA). El CMS mostró una respuesta cuadrática (p<0,05), alcanzando valores máximos en T1 (3,93 kg d⁻¹ en terneros; 5,23 kg d⁻¹ en novillos). La GDP mostró un efecto lineal significativo en terneros (p=0,042), con valores positivos en T0 (+0,23 kg d⁻¹) y T1 (+0,42 kg d⁻¹) y negativos en T2 (-0,19 kg d⁻¹) y T3 (-0,25 kg d⁻¹); en novillos el patrón fue similar, aunque sin alcanzar significancia estadística. El BUN aumentó linealmente (p<0,001) con la dosis de urea, alcanzando niveles de 31,9-32,4 mg dL⁻¹ en T3. Se concluye que la amonificación con urea al 3,5% constituye la estrategia óptima para mejorar la calidad nutritiva del heno de *S. sphacelata*, maximizando el consumo y la ganancia de peso. Dosis superiores generan un exceso de nitrógeno no proteico, evidenciado por BUN elevado (>23 mg dL⁻¹) y pérdida de peso corporal, indicativo de un desbalance entre la disponibilidad de nitrógeno y la energía fermentable en el rumen.

Palabras clave: Nitrógeno ureico en sangre, consumo de materia seca, gramínea megatérmica, tratamiento químico de forrajes.

Effect of urea ammoniation on the nutritional quality of *Setaria sphacelata* hay in cattle

Abstract. In the Northeast region of Argentina (NEA), haymaking of tropical grasses at advanced phenological stages frequently results in forages of low nutritional quality, limiting cattle performance. The objective of this study was to evaluate the effect of ammoniation with increasing levels of urea on the nutritional quality of *Setaria sphacelata* hay and its impact on intake, weight gain, and blood urea nitrogen (BUN) in growing cattle. Low-quality *Setaria* hay (3.96% CP; 81.48% NDF) was treated with urea on a dry matter basis at levels of 0% (T0-control), 3.5% (T1), 7.0% (T2), and 10.5% (T3), with an incubation period of 28 days. The chemical composition of the hay (n=16 hay bales) was evaluated under a completely randomized design. Subsequently, a feeding trial was conducted with eight cattle (four calves weighing 163

± 2 kg and four steers weighing 286 ± 3 kg) under a 4×4 Latin square design for 84 days, measuring dry matter intake (DMI), average daily gain (ADG) and BUN. Ammoniation linearly increased crude protein content (from 3.96% in T0 to 12.03% in T3; $p < 0.001$), without significantly affecting fiber fractions (NDF, ADF). DMI showed a quadratic response ($p < 0.05$), with the highest values observed in T1 (3.93 kg d⁻¹ in calves and 5.23 kg d⁻¹ in steers). ADG showed a significant linear effect in calves ($p = 0.042$), with positive values in T0 (+0.23 kg d⁻¹) and T1 (+0.42 kg d⁻¹) and negative values in T2 (-0.19 kg d⁻¹) and T3 (-0.25 kg d⁻¹); in steers, a similar pattern was observed although it did not reach statistical significance. BUN increased linearly ($p < 0.001$) with urea dose, reaching 31.9-32.4 mg dL⁻¹ in T3. These results indicate that ammoniation with 3.5% urea is the optimal strategy to improve the nutritional quality of *S. sphacelata* hay and maximize intake and weight gain, whereas higher doses lead to excess non-protein nitrogen, evidenced by elevated BUN (>23 mg dL⁻¹) and body weight loss, suggesting an imbalance between nitrogen availability and fermentable energy in the rumen.

Key words: Blood urea nitrogen; dry matter intake; tropical grass; chemical treatment of forages.

INTRODUCCIÓN

La región del nordeste de Argentina (NEA) comprende las provincias de Misiones y Corrientes, centro y este del Chaco y Formosa, norte de Santa Fe y norte de Entre Ríos, abarcando una superficie de 30.510.300 ha. El clima es subtropical húmedo, con precipitaciones que oscilan entre 900 y 1.800 mm anuales, concentradas en primavera-verano y otoño (Gentile et al. 2020). El stock ganadero de esta zona del país fue en 2024 de 13,1 millones de cabezas, lo que representa el 25,4% de la existencia nacional (SAGyP 2024).

En los sistemas ganaderos de esta región, la producción de forraje conservado, particularmente mediante henificación, ha adquirido relevancia para mitigar los déficits alimentarios durante los períodos de restricción estacional. Las gramíneas megatérmicas que componen el tapiz vegetal, principalmente especies de los géneros *Setaria*, *Chloris* y *Brachiaria*, se caracterizan por su rápida evolución fenológica durante el verano, lo que conlleva una drástica disminución de su calidad nutritiva, si el corte no se realiza en el momento oportuno (Nenning et al. 2022). En particular, *Setaria sphacelata* es una gramínea C4 perenne de amplia difusión en el NEA, con una productividad que puede alcanzar 8.000-12.000 kg MS ha⁻¹ por año, constituyendo una de las principales especies utilizadas para la henificación en la región (Nenning et al. 2022). En la práctica, tanto para pastoreo directo como para la elaboración de rollos, es frecuente que la cosecha se realice en el estado fenológico reproductivo de semillazón, lo que resulta en materiales de baja calidad nutritiva (Ricci y Toranzos 2004).

La confección de henos de alta calidad se ve frecuentemente limitada por factores climáticos adversos, problemas logísticos y una planificación subóptima del momento de cosecha. Como consecuencia, es común obtener materiales con bajo contenido de proteína bruta (PB), alta concentración de fibra detergente neutra (FDN) y digestibilidad limitada (McDonald et al. 2022). Estas características afectan negativamente el consumo voluntario y la eficiencia metabólica de los rumiantes (Tedeschi et al. 2023, Zurak et al. 2023).

La calidad de los forrajes puede entenderse como la integración de dos atributos principales: el valor nutritivo, definido como la capacidad del alimento para proveer los nutrientes requeridos por el animal, y el valor alimenticio,

que considera la ingestión y utilización metabólica de estos nutrientes (NASEM 2021, McDonald et al. 2022). En la práctica, la valoración nutricional constituye la relación entre la composición química, la digestibilidad y el rendimiento de materia seca (MS), siendo la base para determinar este concepto integral de calidad (NASEM 2021, McDonald et al. 2022). Existe consenso en la literatura científica de que la calidad del heno está determinada fundamentalmente por la especie forrajera y su estado fenológico al momento de la cosecha (Jayasinghe et al. 2022, McDonald et al. 2022).

No obstante, para materiales cosechados en estadios avanzados, existen técnicas de tratamiento químico que permiten mejorar su valor nutritivo, entre ellas, la amonificación. Este proceso, aplicado a forrajes de baja calidad, como las gramíneas C4 en estado maduro o seco, es una estrategia clave para mejorar su valor nutritivo (Brown y Adjei 1995; Ferreira et al. 2022). El amoníaco actúa rompiendo los enlaces éster entre lignina y hemicelulosa, aumentando su solubilidad y facilitando el acceso de los microorganismos fibrolíticos ruminales (Sundstøl et al. 1978, Sundstøl y Owen 1984). Este proceso no solo incrementa la digestibilidad de la fibra, sino que también incorpora nitrógeno no proteico (NNP) al forraje, elevando su contenido de PB (Brown y Adjei 1995).

Es importante señalar que el uso de urea como fuente de amoníaco conlleva riesgos potenciales de toxicidad. La urea es rápidamente hidrolizada por la ureasa ruminal, liberando amoníaco que, en concentraciones excesivas, puede superar la capacidad de detoxificación hepática del animal (Carrillo-Muro et al. 2024). Sin embargo, en el proceso de amonificación del heno, la urea se aplica previamente al forraje y el amoníaco se fija a las estructuras de la pared celular durante el período de incubación, por lo que la liberación ruminal es más gradual. No obstante, el monitoreo del nitrógeno ureico en sangre (BUN) resulta fundamental como indicador del balance entre nitrógeno y energía en la dieta (Carrillo-Muro et al. 2024).

Estudios previos han reportado que la amonificación puede generar mejoras significativas en el consumo de materia seca (CMS), la ganancia diaria de peso (GDP) y el BUN, considerado un indicador indirecto del balance nitrogenado en bovinos (Brown y Adjei 1995, Wahyono et al. 2022). Sin embargo, la evidencia científica generada en las condiciones agroecológicas específicas del NEA es aún limitada. La respuesta a la amonificación es especie-dependiente y varía según el grado de lignificación y la

composición de la pared celular del forraje, por lo que los resultados obtenidos en otras gramíneas tropicales no son directamente extrapolables a *S. sphacelata*. Investigaciones con otros residuos agrícolas y gramíneas tropicales sugieren efectos positivos (Brown y Adjei 1995, Ferreira et al. 2022).

Dada la creciente importancia del uso de henos en la región, muchos de ellos confeccionados en momentos subóptimos, y la disponibilidad de esta técnica de mejora, se plantea la necesidad de generar información local que permita cuantificar el potencial real de la amonificación sobre los componentes que definen la calidad de estos recursos alimenticios y su impacto en indicadores fisiológicos del animal (Brown y Adjei 1995, Ferreira et al. 2022).

Considerando que el heno de gramíneas megatérmicas del NEA suele presentar contenidos de PB inferiores al 6% y FDN superiores al 75% al momento de la henificación, y que la amonificación ha mostrado resultados variables según la especie forrajera y las condiciones de aplicación (Brown y Adjei 1995, Ferreira et al. 2022), se plantea como objetivo evaluar el efecto de niveles crecientes de urea como fuente de amoníaco sobre la calidad nutritiva de henos de *S. sphacelata*, y su impacto en el consumo, la ganancia diaria de peso y el nitrógeno ureico en sangre de bovinos en crecimiento.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación y sitio experimental. El ensayo experimental se llevó a cabo en la Estación Experimental Agropecuaria Corrientes del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), ubicada en las coordenadas 27° 39' Latitud Sur y 58° 46' Longitud Oeste, a una altitud de 56 metros sobre el nivel del mar. El sitio se caracteriza por un clima subtropical húmedo, con temperatura media anual de 21,5 °C y precipitaciones de aproximadamente 1.300 mm anuales. Los suelos predominantes son de tipo argiudol, de aptitud ganadera.

Confección del heno. El material forrajero utilizado fue heno de *S. sphacelata*. El proceso de henificación se inició durante el período estival, cuando el cultivo se encontraba en el estado fenológico de madurez fisiológica (semillazón). Esta práctica es habitual en el manejo de gramíneas tropicales de la región (Ricci y Toranzos 2004) y fue adoptada deliberadamente con el propósito de obtener forraje conservado de baja calidad nutritiva.

La cosecha se realizó mediante el uso de una cortahileradora. El forraje cortado fue mantenido en andanas para su oreo durante un período de tres días, transcurridos los cuales se procedió al enrollado para la obtención de los rollos, con dimensiones aproximadas de 1,20 m de diámetro y 1,20 m de ancho. Posteriormente a su confección, los rollos fueron almacenados en un galpón hasta la aplicación de los tratamientos químicos, con el fin de preservarlos de la intemperie.

Proceso de amonificación. Un total de dieciséis rollos (n=16) fueron utilizados en el desarrollo del ensayo. Los mismos se dividieron en cuatro lotes o tandas para

su procesamiento. Dentro de cada tanda (4), los cuatro rollos fueron asignados al azar a cada uno de los cuatro tratamientos (k=4: T0, T1, T2, T3). Previamente, se procedió a pesar individualmente cada rollo, con un peso promedio de 290 ± 26 kg.

Los rollos asignados a los tratamientos T1, T2 y T3 fueron colocados en posición vertical, envueltos herméticamente con una lámina de polietileno de 225 micrones (Agrinplex®), sellados mediante cinta adhesiva y reforzado su cierre con sogas perimetrales. Se dejó una abertura superior para la aplicación de la solución de urea. Los rollos del grupo testigo (T0) no fueron envueltos ni recibieron solución alguna, constituyendo el tratamiento testigo de referencia para el ensayo (Sundstøl y Owen 1984).

Para el cálculo estandarizado de las dosis, se utilizó el contenido de materia seca (MS) promedio (85,5%) obtenido del análisis del heno empleado. La solución de urea se aplicó de manera uniforme sobre la superficie de cada rollo, utilizando una regadera, a una dosis de 300 ml de solución por kg de heno, siguiendo el protocolo descrito por Sundstøl y Owen (1984). Esto resultó en una aplicación de 0, 30, 60 y 90 g de urea por kg de heno, que representaron los tratamientos T0, T1, T2 y T3, respectivamente. Expresado con relación al total de MS, la urea aplicada fue a razón de 0%, 3,5%, 7,0% y 10,5%.

Tras la aplicación, que elevó la humedad del material aproximadamente al 38%, la abertura fue sellada doblando el polietileno sobrante y colocando peso sobre ella, para lograr un cierre hermético y minimizar las fugas de amoníaco (NH₃). Los rollos permanecieron cerrados por un período de incubación de 28 días.

Diseño experimental para la evaluación del heno.

Para evaluar el efecto de la amonificación sobre la calidad nutritiva del heno, se empleó un diseño experimental completamente aleatorizado (DCA). Las 16 unidades experimentales (rollos) se distribuyeron en 4 tratamientos con 4 repeticiones cada uno (n=4).

Animales. Las unidades experimentales fueron bovinos machos castrados, cruce cebú, productos del cruzamiento alternado “criss-cross” de Hereford y Brahman (2/3), tomados al azar de la unidad de cría de la EEA INTA - Corrientes. Cuatro eran terneros con un peso vivo (PV) inicial de 163 ± 2 kg y cuatro novillos con un PV inicial de 286 ± 3 kg, en un total de 8 unidades experimentales. La inclusión de dos categorías permitió evaluar la respuesta a la amonificación en diferentes etapas de crecimiento y con distintos requerimientos nutricionales. Previo al inicio del ensayo, cada animal recibió tratamiento antiparasitario y vitamínico (complejo ADE). Durante todo el período experimental se proporcionó suministro diario de sales minerales (Na, Ca:P) en bandejas individuales. Los animales fueron alojados en corrales individuales de 18 m². Dada la época estival, fue necesario instalar media sombra sobre una proporción del corral para garantizar confort térmico a los animales y proveer agua fresca. El sector denominado “boxes”, donde se encontraban los comederos, estaba completamente techado.

El ensayo con animales se llevó a cabo entre los meses de octubre y diciembre del año 2021 (período primaveral-estival temprano), con una duración total de 84 días. La dieta consistió exclusivamente en heno de *S. sphacelata* (tratado o sin tratar según el tratamiento asignado en cada período), ofrecido *ad libitum*, más el suplemento mineral diario. El experimento se dividió en cuatro períodos de 21 días cada uno. La unidad experimental fue cada animal individual dentro de cada período. Los primeros 14 días se destinaron a la adaptación de los animales a la nueva dieta, seguidos de la evaluación del CMS entre los días 14 y 21. Los animales fueron pesados al inicio y al final de cada período para el cálculo de la GDP. En el día 21 de cada período, se realizó una extracción de sangre por vía yugular para la determinación del BUN.

Diseño experimental para la evaluación con animales. La Tabla 1 presenta la distribución de los tratamientos por períodos y animales. Se empleó un diseño en cuadrado latino 4×4 balanceado, replicado para cada categoría animal evaluada (terneros y novillos). Ambas categorías siguieron la misma secuencia de asignación de tratamientos, lo que dio lugar a dos cuadrados latinos independientes con la misma estructura. Las columnas corresponden a los períodos, las filas al efecto animal y el efecto tratamiento evaluó la influencia de los diferentes niveles de urea (T0, T1, T2, T3). La asignación inicial de cada animal a su tratamiento fue aleatoria en el primer período y la rotación posterior se realizó conforme a la estructura predeterminada del cuadrado latino.

Tabla 1. Distribución de los tratamientos por período y animal en el diseño de Cuadrado Latino 4×4.

	Período 1	Período 2	Período 3	Período 4
TERNEROS				
Animal 1	T0	T3	T1	T2
Animal 2	T1	T2	T0	T3
Animal 3	T2	T1	T3	T0
Animal 4	T3	T0	T2	T1
NOVILLOS				
Animal 5	T0	T3	T1	T2
Animal 6	T1	T2	T0	T3
Animal 7	T2	T1	T3	T0
Animal 8	T3	T0	T2	T1

T0: 0% urea; T1: 3,5% urea; T2: 7,0% urea; T3: 10,5% urea (% en base MS). Se utilizaron los mismos tratamientos para ambas categorías.

Muestras y Análisis.

Muestras de heno. Las muestras de heno fueron molidas en un molino tipo Wiley con malla de 1 mm. El contenido de MS se determinó por secado en estufa a 105 °C durante 24 horas (AOAC 2019). El nitrógeno total se determinó por el método de Kjeldahl (AOAC 2019), multiplicando por el factor 6,25 para obtener PB. Las fracciones de FDN y FDA se determinaron según Van Soest et al. (1991), utilizando un analizador de fibra ANKOM 200 (ANKOM Technology, Macedon, NY, USA). La hemicelulosa se calculó por diferencia entre FDN y FDA. El contenido de cenizas (Cz) se determinó por incineración en mufla a 550 °C durante 4 horas (AOAC 2019). Todos los análisis se realizaron por duplicado en el Laboratorio de Química (Facultad de Ciencias Agrarias) y Laboratorio de Fisiología (Facultad de Ciencias Veterinarias).

Muestra sanguínea. El día 21 de cada período, previo al suministro de alimento, se extrajeron muestras de sangre por punción de la vena yugular mediante el sistema Vacutainer, en tubos sin anticoagulante. Las muestras fueron centrifugadas inmediatamente a 3.000 rpm durante 15 minutos. El suero obtenido fue almacenado a -20°C hasta su análisis. La concentración de urea en sangre se determinó mediante técnica enzimática colorimétrica, utilizando un kit comercial (Método de la Ureasa, Laboratorio Wiener),

con lectura espectrofotométrica a 340 nm en la Cátedra de Fisiología, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNNE. El BUN se calculó dividiendo la concentración de urea sérica (mg dL⁻¹) por el factor 2,14.

Análisis estadístico. El análisis de los datos se realizó utilizando el programa InfoStat (Di Rienzo et al. 2020). Previo al ANOVA, se verificaron los supuestos de normalidad de los residuos mediante la prueba de Shapiro-Wilk y la homogeneidad de varianzas mediante la prueba de Levene; todos los supuestos se cumplieron satisfactoriamente (p>0,05), por lo que no fue necesaria la aplicación de transformaciones. Para el DCA (evaluación del heno), el modelo fue: $Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$. Para el cuadrado latino (evaluación con animales): $Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \tau_k + \varepsilon_{ijk}$, donde α_i es el efecto animal (fila), β_j el efecto período (columna) y τ_k el efecto tratamiento. Las comparaciones entre tratamientos se realizaron mediante medias de mínimos cuadrados (LSM), con separación de medias mediante la prueba de Tukey ($\alpha=0,05$). Se evaluaron los efectos lineal, cuadrático y cúbico mediante contrastes polinomiales ortogonales.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tras el período de amonificación, la apertura de los rollos reveló alteraciones físicas evidentes, tales como

cambios en la coloración, de un amarillo con tonos verdes del heno testigo (T0) hasta un color ámbar o amarillo caramelo en los rollos tratados (T1, T2, T3). Texturalmente, el heno amonificado presentó una consistencia más suave y flexible al tacto. Al olfato, se detectó un fuerte olor amoniacal, el cual se disipó en el transcurso de 24 horas por efecto de la exposición al aire ambiental. Estos cambios son indicadores de una reacción exitosa, tal como lo reportan Brown y Adjei (1995) y Ferreira et al. (2022).

La Tabla 2 presenta la composición química del heno no tratado y tratado con diferentes niveles de urea. El heno testigo (T0) mostró alto contenido de fibra y bajo nivel de PB, características que lo catalogan como forraje de baja calidad nutritiva, típico de las gramíneas cosechadas en estados fenológicos de madurez fisiológica avanzada (McDonald et al. 2022).

Tabla 2. Composición química (% de Materia Seca) del heno de *Setaria* sp. amonificado.

Tratamiento	FDN	FDA	HC	PB	Cz
T0	81,48 ± 1,7 ^a	53,88 ± 2,1 ^a	26,74 ± 1,90 ^a	3,96 ± 0,36 ^a	4,99 ± 0,20 ^a
T1	79,35 ± 3,5 ^a	53,96 ± 4,7 ^a	26,83 ± 2,96 ^a	6,68 ± 0,22 ^{ab}	5,29 ± 0,35 ^a
T2	80,75 ± 4,1 ^a	53,76 ± 4,9 ^a	25,55 ± 2,80 ^a	8,06 ± 1,26 ^b	5,49 ± 0,26 ^a
T3	78,67 ± 3,0 ^a	51,30 ± 2,2 ^a	27,38 ± 3,09 ^a	12,03 ± 3,04 ^c	4,48 ± 0,92 ^a
E.E.	1,61	1,88	1,35	0,86	0,34
p valor	0,6094	0,7104	0,6568	0,0005*	0,1318
E. Lineal	0,3507	0,3635	0,8772	0,0001*	0,3138
E. Cuadrático	0,9873	0,5128	0,3555	0,4762	0,0374*
E. Cúbico	0,3497	0,8176	0,4204	0,3326	0,3646

*Medias en la misma columna con superíndices diferentes difieren significativamente ($p \leq 0,05$, prueba de Tukey). FDN: Fibra Detergente Neutro; FDA: Fibra Detergente Ácido; HC: Hemicelulosa; PB: Proteína Bruta; Cz: Cenizas. E: Efecto.

Las fracciones de la pared celular no mostraron diferencias estadísticas ($p > 0,05$) entre tratamientos. FDN, FDA y hemicelulosa se mantuvieron inalteradas ante los crecientes niveles de amonificación. Debe señalarse que, con $n=4$ repeticiones por tratamiento, la potencia estadística para detectar diferencias moderadas en las fracciones fibrosas pudo haber sido insuficiente. Adicionalmente, la ausencia de determinación de las fracciones nitrogenadas de la fibra (N-FDN, N-FDA) constituye una limitación, dado que el nitrógeno fijado por la amonificación a los componentes de la pared celular pudo haber sobreestimado los valores aparentes de FDN y FDA, enmascarando cambios reales en la hemicelulosa. Estos resultados contrastan con los de Ferreira et al. (2022), quienes reportan reducciones significativas de FDN en henos de gramíneas tropicales tratados con urea. Desde la teoría, un mayor contenido de enlaces éster lignina-hemicelulosa debería ofrecer más sustrato para la acción hidrolítica del amoníaco (Sundstøl et al. 1978). Sin embargo, la ausencia de efecto en nuestro estudio podría deberse a múltiples factores: el tiempo de incubación de 28 días pudo haber sido insuficiente para un material altamente lignificado, y la concentración de amoníaco generado pudo no haber alcanzado todos los sitios de enlace en la estructura compacta de la pared celular (Brown y Adjei 1995, Ferreira et al. 2022).

El contenido de PB mostró un incremento lineal significativo ($p < 0,001$) en respuesta a los niveles crecientes de urea. El tratamiento T3 (10,5% de urea en base MS)

triplicó el contenido de PB del testigo, alcanzando un 12,03%. Este aumento es consecuencia directa de la fijación de NNP del amoníaco a los componentes de la pared celular, principalmente mediante enlaces con grupos carboxilo de ácidos urónicos de la hemicelulosa y con la lignina a través de reacciones de aminación (Brown y Adjei 1995). No se midió la temperatura durante la incubación, lo cual impide descartar completamente la presencia de reacciones de Maillard (formación de N ligado a FDA); sin embargo, la ausencia de oscurecimiento excesivo y los niveles de FDA inalterados sugieren que este efecto fue mínimo. Nuestros resultados concuerdan con los de Ferreira et al. (2022), quienes observaron un incremento lineal de la PB en henos de gramíneas tropicales amonificadas con urea.

Los resultados sobre la fracción de cenizas confirman que el tratamiento con amoníaco actúa principalmente sobre la fracción orgánica de la pared celular (Sundstøl y Owen 1984). La concentración de cenizas no se vio modificada por la prueba de Tukey ($p > 0,05$). Si bien se detectó un efecto cuadrático estadísticamente significativo ($p = 0,0374$), este carece de relevancia biológica evidente dado que Tukey no detectó diferencias entre pares de tratamientos y el rango de variación fue estrecho (4,48-5,49%), sugiriendo variabilidad inherente al material.

La Tabla 3 muestra los resultados sobre el consumo de heno, la ganancia diaria de peso, el peso vivo y BUN de los terneros y novillos alimentados con heno de *Setaria* sp. sin tratar y con niveles crecientes de urea.

Tabla 3. Respuesta productiva y metabólica de bovinos alimentados con heno de *Setaria* sp. tratado con urea.

Variable	T0	T1	T2	T3	E.E.	p-valor	Efecto
TERNERO							
PV (kg)	163	162	165	161	1,47	0,3735	-
CMS (kg d ⁻¹)	2,96 ^a	3,93 ^b	3,63 ^{ab}	3,42 ^{ab}	0,17	0,0320*	(C) 0,012
CMS (% PV)	1,82 ^a	2,42 ^b	2,20 ^{ab}	2,12 ^{ab}	0,09	0,0145*	(C) 0,007
GDP (kg d ⁻¹)	+0,23 ^{ab}	+0,42 ^b	-0,19 ^a	-0,25 ^a	0,13	0,0660	(L) 0,042
BUN (mg dL ⁻¹)	4,3 ^a	16,0 ^{ab}	23,9 ^{bc}	31,9 ^c	2,40	0,0010*	(L) 0,0002
NOVILLO							
PV (kg)	289	283	287	286	3,30	0,7007	-
CMS (kg d ⁻¹)	4,44 ^a	5,23 ^a	4,97 ^a	4,12 ^a	0,23	0,0545	(C) 0,013
CMS (% PV)	1,55 ^{ab}	1,86 ^b	1,76 ^{ab}	1,45 ^a	0,07	0,0283*	(C) 0,006
GDP (kg d ⁻¹)	-0,12	+0,33	-0,24	-0,10	0,32	0,7674	-
BUN (mg dL ⁻¹)	5,4 ^a	13,2 ^a	27,7 ^b	32,4 ^b	2,63	0,0012*	(L) 0,0002

Medias en la misma fila con superíndices diferentes difieren significativamente ($p \leq 0,05$, prueba de Tukey). CMS: Consumo de Materia Seca; PV: Peso Vivo; GDP: Ganancia Diaria de Peso; BUN: Nitrógeno Ureico en Sangre. Efecto: (L) lineal, (C) cuadrático, NS: no significativo. Ecuaciones de regresión ($x = \% \text{ urea en base MS}$): Terneros - CMS: $y = 3,025 + 0,286x - 0,024x^2$ ($R^2=0,48$); BUN: $y = 5,44 + 2,59x$ ($R^2=0,77$); GDP: $y = 0,36 - 0,058x$ ($R^2=0,38$). Novillos - CMS: $y = 4,46 + 0,316x - 0,033x^2$ ($R^2=0,51$); BUN: $y = 5,34 + 2,73x$ ($R^2=0,83$).

El peso vivo de los animales no mostró diferencias significativas atribuibles a los tratamientos. Sin embargo, la GDP reveló un patrón informativo. En terneros, se detectó un efecto lineal significativo ($p=0,042$) con GDP positiva en T0 (+0,23 kg d⁻¹) y T1 (+0,42 kg d⁻¹) y negativa en T2 (-0,19 kg d⁻¹) y T3 (-0,25 kg d⁻¹); la prueba de Tukey discriminó a T1 de T2 ($p=0,040$) y de T3 ($p=0,024$). En novillos, si bien el patrón descriptivo fue similar (T1 con la mayor GDP: +0,33 kg d⁻¹), las diferencias no alcanzaron significancia estadística ($p=0,767$), atribuible a la mayor variabilidad individual en esta categoría ($EE=0,32$ vs. 0,13 en terneros). La pérdida de peso observada en T2 y T3 en terneros, acompañada de BUN elevado, confirma que el nitrógeno excedente no fue utilizado para síntesis proteica sino convertido a urea con un costo energético que provocó balance negativo.

El análisis de contrastes polinomiales detectó un efecto cuadrático significativo del nivel de urea sobre el CMS en ambas categorías (terneros: $p=0,012$; novillos: $p=0,013$). En terneros, la comparación de medias por Tukey reveló que T1 difirió significativamente de T0 (3,93 vs. 2,96 kg d⁻¹; $p=0,009$), mientras que T2 y T3 presentaron valores intermedios sin diferir estadísticamente de T0 ni de T1. En novillos, si bien el ANOVA global para CMS (kg d⁻¹) no alcanzó significancia ($p=0,054$), Tukey detectó diferencias entre T1 y T3 (5,23 vs. 4,12 kg d⁻¹; $p=0,032$). Este patrón de respuesta ha sido observado previamente: una amonificación moderada mejora la palatabilidad y el aporte de nitrógeno para la microbiota ruminal, incrementando el consumo, mientras que niveles excesivos pueden generar compuestos que limitan la ingesta (Brown y Adjei 1995, Ferreira et al. 2022).

El aumento del CMS podría atribuirse al incremento de la velocidad de digestión y pasaje ruminal (Tedeschi

et al. 2023). Si bien la digestibilidad no fue evaluada directamente en el presente estudio, lo cual constituye una limitación, el incremento del CMS en T1, acompañado de GDP positiva, sugiere una mejora en la utilización del forraje. La incorporación de forraje amonificado a dietas deficientes ha demostrado beneficios productivos y económicos significativos en sistemas de cría bovina (Salami et al. 2020, Wahyono et al. 2022).

El aumento inicial del CMS responde directamente al mayor aporte de nitrógeno a la microbiota ruminal, lo que estimula y optimiza la actividad microbiana (McDonald et al. 2022). Asimismo, la probable ruptura de la pared celular inducida por el tratamiento amoniaco proporciona al ecosistema ruminal sustrato disponible, principalmente hemicelulosa, que las bacterias celulolíticas degradan eficientemente (Weimer 2022). El amoniaco liberado actúa como fuente clave de NNP para la síntesis de proteínas microbianas, que constituyen la principal fuente de aminoácidos disponible para el rumiante (Wahyono et al. 2022).

La falta de respuesta positiva en el consumo en T2 y T3 sugiere un desbalance entre nitrógeno y energía disponible. Si el amoniaco se libera más rápidamente de lo que puede ser utilizado, el exceso es absorbido y convertido en urea para su excreción (Nichols et al. 2022, Zurak et al. 2023), implicando un costo energético que limita el consumo y la productividad (Brown y Adjei 1995, Wahyono et al. 2022).

La concentración de BUN mostró un incremento lineal y altamente significativo ($p < 0,001$) con el aumento del nivel de amonificación en ambas categorías. Los valores del testigo (T0) estuvieron por debajo del rango fisiológico adecuado para bovinos (7-15 mg dL⁻¹; Carrillo-Muro et al. 2024), indicando deficiencia de nitrógeno en la dieta base. En novillos, los valores de BUN de T0 y T1 no

difierieron estadísticamente (Tukey), lo cual se atribuye a la variabilidad individual y al tamaño muestral ($n=4$); pese a la tendencia lineal altamente significativa ($p=0,0002$), la separación de medias solo discriminó a partir de T2. Los aumentos en T2 y T3, superiores a 20 mg dL^{-1} , sugieren exceso de nitrógeno amoniacal en el rumen no incorporado eficientemente por la microbiota (Brown y Adjei 1995, Wahyono et al. 2022).

Carrillo-Muro et al. (2024) señalan que el BUN es un indicador sensible del equilibrio entre proteínas y energía en la dieta. Valores superiores a $19\text{-}20 \text{ mg dL}^{-1}$ indican un costo energético considerable vinculado a la ureagénesis hepática, lo que disminuye la eficiencia en la utilización del nitrógeno dietario y se asocia con pérdida de peso corporal, como se observó en los tratamientos T2 y T3 del presente estudio (Nichols et al. 2022, Zurak et al. 2023).

Carrillo-Muro et al. (2024) establecieron valores de referencia de BUN para bovinos en crecimiento, asociando niveles de 11 a 15 mg dL^{-1} con tasas máximas de ganancia. En el presente estudio, los valores observados en T2 y T3 (superiores a 23 mg dL^{-1}), junto con las pérdidas diarias de peso en terneros, evidencian un uso ineficiente del nitrógeno. Este hallazgo coincide con lo reportado por Wahyono et al. (2022) y Ferreira et al. (2022), quienes sostienen que la suplementación energética, especialmente con fuentes de carbohidratos de rápida fermentación como almidones de cereales (maíz o sorgo) o subproductos ricos en pectinas (pulpa de cítricos), resulta fundamental para optimizar el aprovechamiento del nitrógeno no proteico de los forrajes amonificados.

Los efectos metabólicos sistémicos del tratamiento con urea comprenden el incremento significativo tanto del nitrógeno amoniacal ruminal como del BUN (He et al. 2022). Este incremento se debe a la rápida hidrólisis de la urea por la ureasa ruminal, liberando amoníaco absorbido a través de la pared ruminal y convertido a urea por el hígado (He et al. 2022).

Los terneros, con mayores requerimientos proteicos relativos por unidad de peso vivo, exhibieron una respuesta más pronunciada en CMS y GDP bajo T1, resultado consistente con su mayor demanda de N. En ambas categorías, T1 cubrió parcialmente el déficit proteico de la dieta base, como lo evidencia el BUN dentro del rango fisiológico adecuado y la GDP positiva. En contraste, T2 y T3 excedieron la capacidad de utilización del N, generando BUN elevado y pérdida de peso en terneros. Aunque la pérdida de peso en novillos fue de menor magnitud, posiblemente atribuible a su mayor capacidad hepática de ureagénesis.

CONCLUSIÓN

La amonificación con urea en heno de *S. sphacelata* de baja calidad en el Nordeste Argentino es una técnica nutricional efectiva para la provisión de nitrógeno, pero su respuesta productiva depende estrictamente de la dosis. El tratamiento con urea al 3,5% en base MS demostró ser el nivel óptimo de eficiencia, al incrementar significativamente la PB y el CMS (hasta 33% en terneros), sin modificaciones en las fracciones fibrosas (FDN y FDA), lo que indica que el beneficio fue atribuible principalmente a la adición de NNP,

antes que a modificaciones estructurales significativas de la pared celular. Este tratamiento también maximizó la GDP en ambas categorías, con un efecto lineal significativo en terneros ($p=0,042$). Los niveles de amonificación superiores indujeron un comportamiento cuadrático negativo en el CMS y un desbalance metabólico, confirmado por el incremento de BUN por encima del umbral de seguridad ($>23 \text{ mg dL}^{-1}$) y la pérdida de peso corporal en terneros. Se concluye que el máximo aprovechamiento de la amonificación del heno de *S. sphacelata* se logra con el 3,5% de urea en base MS. Para dosis superiores, la suplementación energética sincrónica resulta indispensable para optimizar la utilización del nitrógeno incorporado y prevenir la toxicidad amoniacal.

Las principales limitaciones del presente estudio incluyen el tamaño muestral reducido ($n=4$), la ausencia de determinación de las fracciones nitrogenadas de la fibra (N-FDN y N-FDA), la falta de mediciones directas de digestibilidad *in vivo* y de monitoreo de temperatura durante el tiempo de reacción. Futuras investigaciones deberían abordar: (a) la evaluación de la suplementación energética sincrónica para optimizar la utilización del NNP; (b) la determinación de la digestibilidad *in vivo* e *in vitro* del heno amonificado; y (c) la realización de ensayos con mayor número de repeticiones y cuantificación de las fracciones nitrogenadas de la fibra.

Agradecimiento. A la Téc. Lorena Mariana Suárez del I.N.T.A. Centro Regional Corrientes por su desinteresada colaboración en la revisión y sistematización de informes.

Contribución de los autores. JMN, LG: Conceptualización. JMN, GAK: Metodología. JMN, MAS, NMAP, LG: Investigación. JMN: Análisis formal. ASS, BMAR, SMCS: Preparación de muestras. JMN: Redacción - borrador original. GAK, NMAP: Redacción - revisión y edición. Todos los autores: Supervisión.

Declaración de conflictos de intereses. Los autores declaran no tener conflictos de intereses.

Disponibilidad de datos. Los datos estarán disponibles previa solicitud.


ORCID

Navamuel, J.M.  <https://orcid.org/0009-0005-4449-326X>

Aguilar, N.M.A.  <https://orcid.org/0000-0001-7894-1335>

Koza, G.A.  <https://orcid.org/0009-0002-4624-285X>

Slukwa, M.A.  <https://orcid.org/0009-0008-1900-3099>

Arenhardt, S.S.  <https://orcid.org/0009-0000-0044-9463>

Rolón, B.M.A.  <https://orcid.org/0009-0001-8089-2920>

Calderón Sadlovsky, S.M.  <https://orcid.org/0009-0005-7128-6362>

Gándara, L.  <https://orcid.org/0009-0003-8518-4151>

REFERENCIAS

1. AOAC International. Official methods of analysis of AOAC International. 21st ed. Rockville (MD): AOAC International; 2019. Disponible en: <https://www.aoc.org/official-methods-of-analysis>.
2. Brown WF, Adjei MB. Urea ammoniation effects on the feeding value of guineagrass (*Panicum maximum*) hay. *J Anim Sci.* 1995; 73(10): 3085-3093. <https://doi.org/10.2527/1995.73103085x>
3. Carrillo-Muro O, Rodríguez-Cordero D, Hernández-Briano P, Correa-Aguado PI, Medina-Flores CA, Huerta-López LA, Rodríguez-Valdez FJ, Rivera-Villegas A, Plascencia A. Enzymic activity, metabolites, and hematological responses in high-risk newly received calves for “clinical health” reference intervals. *Animals.* 2024; 14(16): 2342. <https://doi.org/10.3390/ani14162342>
4. Di Rienzo JA, Casanoves F, Balzarini MG, Gonzalez L, Tablada M, Robledo CW. InfoStat versión 2020. Córdoba: Grupo InfoStat, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Córdoba; 2020. <https://www.infostat.com.ar/>
5. Ferreira RC, Bezerra Neto F, Almeida FC de, Silva AM de A, Cordão MA, Pereira Filho JM. Chemical composition and digestibility of hays of three grasses ammonized with urea. *Rev Principia.* 2022; 59(3): 686-702. <https://doi.org/10.18265/1517-0306a2021id5077>
6. Gentile E, Martín P, Gatti I. Argentina físico-natural: Clima en Argentina. ANIDA. Atlas Nacional Interactivo de Argentina. Buenos Aires: Instituto Geográfico Nacional; 2020. Disponible en: https://static.ign.gob.ar/anida/fasciculos/fasc_afn_clima.pdf.
7. He Y, Zhao S, Zhang X, Zheng N, Yan X, Wang J. Activity- and enrichment-based metaproteomics insights into active urease from the rumen microbiota of cattle. *Microorganisms.* 2022; 10(1): 176. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10010176>
8. Jayasinghe P, Ramilan T, Donaghy DJ, Pembleton KG. Comparison of nutritive values of tropical pasture species grown in different environments, and implications for livestock methane production: a meta-analysis. *Animals.* 2022; 12(14): 1806. <https://doi.org/10.3390/ani12141806>
9. McDonald P, Edwards RA, Greenhalgh JFD, Morgan CA, Sinclair LA, Wilkinson RG. Animal nutrition. 8th ed. Harlow (UK): Pearson; 2022.
10. NASEM. Nutrient requirements of dairy cattle. 8th rev ed. Washington (DC): National Academies Press; 2021. <https://doi.org/10.17226/25806>
11. Nenning FR, Pueyo JD, Cavallero MI. Forrajeras megatérmicas para ambientes de Chaco y Formosa. 1ª ed. Buenos Aires: Ediciones INTA; 2022. Disponible en: <https://repositorio.inta.gob.ar/handle/20.500.12123/13336>.
12. Nichols K, de Carvalho IPC, Rauch R, Martín-Tereso J. Review: unlocking the limitations of urea supply in ruminant diets by considering the natural mechanism of endogenous urea secretion. *Animal.* 2022; 16 Suppl 3: 100537. <https://doi.org/10.1016/j.animal.2022.100537>
13. Ricci HR, Toranzos MR. Índice de calidad de cuatro gramíneas tropicales en cuatro estados fenológicos. *Rev Arg Prod Anim.* 2004; 24(Supl 1): 120-121.
14. SAGyP-MECON. Existencias de bovinos al 31 de diciembre de 2024. Buenos Aires: Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca; 2025. Disponible en: <https://www.magyp.gob.ar>.
15. Sundstøl F, Coxworth E, Mowat DN. Improving the nutritive value of straw and other low-quality roughages by treatment with ammonia. *World Anim Rev.* 1978; 26: 13-21. Disponible en: <https://agris.fao.org/search/en/records/647363eb53aa8c89630be75f>. Último acceso marzo 2026.
16. Sundstøl F, Owen E, editores. Straw and other fibrous by-products as feed. Ámsterdam: Elsevier; 1984. (Developments in animal and veterinary sciences; vol. 14).
17. Tedeschi LO, Adams JM, Vieira RAM. Forages and pastures symposium: revisiting mechanisms, methods, and models for altering forage cell wall utilization for ruminants. *J Anim Sci.* 2023; 101: skad009. <https://doi.org/10.1093/jas/skad009>
18. Van Soest PJ, Robertson JB, Lewis BA. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J Dairy Sci.* 1991; 74(10): 3583-3597. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(91\)78551-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2)
19. Wahyono T, Sholikin MM, Konca Y, Obitsu T, Sadarman S, Jayanegara A. Effects of urea supplementation on ruminal fermentation characteristics, nutrient intake, digestibility, and performance in sheep: a meta-analysis. *Vet World.* 2022; 15(2): 331-340. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2022.331-340>
20. Weimer PJ. Degradation of cellulose and hemicellulose by ruminal microorganisms. *Microorganisms.* 2022; 10(12): 2345. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10122345>
21. Zurak D, Kljak K, Aladrović J. Metabolism and utilisation of non-protein nitrogen compounds in ruminants: a review. *J Cent Eur Agric.* 2023; 24(1): 1-14. <https://doi.org/10.5513/JCEA01/24.1.3645>