

EFFECTO DE LA AMONIFICACIÓN CON UREA SOBRE EL PH Y LA PRESENCIA DE MICROORGANISMO EN HENO DE *BRACHIARIA HUMIDICOLA* (RENDLE) SCHWEICK

Effect of the Ammoniation with Urea on the pH and Microorganisms of Hay of *Brachiaria humidicola*

Norelys Rodríguez-Romero¹, Omar Araujo-Febres², Baldomero González² y Rixio Santos².

¹Universidad Nacional Experimental del Táchira. Decanato de Investigación. San Cristóbal, Venezuela.

²La Universidad del Zulia. Facultad de Agronomía. Apartado 15202. Maracaibo, ZU 4005 Venezuela.

RESUMEN

Con la finalidad de evaluar el efecto de la edad de corte y la amonificación con urea sobre el pH y presencia de microorganismos en heno de *Brachiaria humidicola*, se condujo un ensayo bajo condiciones de bosque seco tropical, con precipitación promedio de 1100 mm/año y temperatura de 28°C. Se utilizó un potrero de una hectárea de *Brachiaria humidicola* al que se le hizo un pase de rotativa para lograr su uniformidad y se ubicaron cinco franjas al azar con un área efectiva de 102 m² para cada uno de las edades de corte (30, 44, 58, 72 y 86 días de edad). Se utilizó un diseño totalmente aleatorizado con un arreglo en parcelas divididas y tres repeticiones. Se procedió a cortar, henificar y picar el heno una vez transcurrida las edades de corte, y colocado en bolsas plásticas para la adición de 0, 3 y 6% de urea diluida en 40% de agua en relación al peso seco del heno. Se procedió a almacenar durante 28 días a temperatura ambiente. Posteriormente se tomaron muestras de las bolsas, se midió pH y se hizo análisis microbiológico para observar presencia de hongos y bacterias. Los resultados muestran un efecto significativo de la amonificación (P<0,0001) y de la interacción de los tratamientos (P<0,005) sobre el pH, observándose un incremento con la adición de urea. Los valores obtenidos fueron 5,66; 7,75; 8,56 y 8,42 para el grupo sin tratamiento, con 0, 3 y 6% de urea, respectivamente.

Palabras clave: Amonificación, edad de corte, *Brachiaria humidicola*, hongos, bacterias.

ABSTRACT

With the purpose of evaluating the effect of the ammoniation with urea and of the cutting age on pH and microorganisms of the hay of *Brachiaria humidicola* under tropical dry forest conditions, with precipitation average of 1100 mm/year and temperature of 28°C. A plot of one hectare with *Brachiaria humidicola* was used after uniformity, five strip were located at random with an effective area of 102 m² for each cutting ages (30, 44, 58, 72 and 86 days). The design used was a completely randomized with a split plot arrangement and three repetitions. The chopped hay was placed in plastic bags and it was added 0, 3 and 6% of urea diluted with 40% of water in relation to the dry weight of the hay. It was stored for 28 days at ambient temperature. Samples from hay were taken for pH and microbiologic analysis to fungus and bacteria counts. The results

showed effects of ammoniation (P<0,0001) and the interaction of treatments (P<0,005) on pH. It showed an increment with levels of urea of 5.66; 7.75; 8.56 y 8.42 for group without treatment with 0.3 y 6% of urea, respectively.

Key words: Ammoniation, cutting age, *Brachiaria humidicola*, fungus, bacteria.

INTRODUCCIÓN

Unos de los factores más importantes a considerar a la hora de la henificación, es la edad en la cual se corta el pasto, ya que a medida que la planta se aproxima a la maduración, el contenido de fibra cruda aumenta rápidamente y disminuye al mismo ritmo el contenido de proteína. En el mejoramiento del valor nutritivo de los pastos se han aplicado tratamientos con ácidos o álcalis (amoníaco) para afectar la composición lignocelulósica de los pastos maduros, permitiendo una mayor colonización microbiana que asegura una mejor digestión del forraje seco.

La amonificación de materiales fibrosos utilizando urea como fuente de amoníaco es una forma recomendada para mejorar el valor nutritivo de los pastos secos y otros materiales fibrosos [3]. La urea depende de la hidrólisis que realizan las ureasas microbianas y/o vegetales y de la presencia de agua para su transformación en amoníaco, esta a su vez reacciona con el agua para formar hidróxido de amonio y cierta cantidad de gas amoniacal, lo que provoca un aumento en el pH [2].

El crecimiento de microorganismos está influenciado por el pH del medio en que se encuentran. Respecto a esto, Tortora *et al.* [11] señalan que los mohos y levaduras crecen dentro de un intervalo de pH generalmente entre 5 y 6, mientras que la mayor parte de las bacterias crecen mejor en pH cercano a la neutralidad (6,5 y 7,5), mientras que los pH ácidos y la alcalinidad inhiben el crecimiento microbiano.

Este trabajo se llevó a cabo con la finalidad de evaluar el efecto de la amonificación con urea en heno de *Brachiaria humidicola* sobre el pH del material ensilado y la presencia de microorganismos como hongos y bacterias.

MATERIALES Y MÉTODOS

El ensayo de campo se condujo en la hacienda "La Esperanza" de la Facultad de Agronomía de La Universidad del Zulia bajo condiciones de bosque seco tropical, donde la

precipitación promedio es de 1100 mm al año y la temperatura de 28°C.

Se escogió un potrero establecido con pasto *Brachiaria humidicola*, al que se le hizo un pase de rotativa para uniformizar, posteriormente se ubicaron cinco franjas al azar en el potrero para cada una de las edades de corte con un área efectiva de 102 m².

A partir de los 30 días se hicieron cortes a 10 cm del suelo con una rotativa cada 14 días para la producción de heno con las diferentes edades de 30, 44, 58, 72 y 86 días, y se dejó deshidratar al sol durante cuatro días.

El procedimiento para la amonificación con urea de los henos de las diferentes edades consistió en añadir: 0, 3 y 6 g de urea por cada 100 g de pasto seco, diluida previamente con una cantidad de agua equivalente al 40% de la materia seca del heno, se llenaron las bolsas plásticas con el pasto picado a 2,5 cm aproximadamente y se roció uniformemente con la mezcla urea-agua, y se cerraron herméticamente. Al material con el tratamiento 0% de urea solamente se le agregó 40 % de agua.

Transcurridos 28 días de almacenamiento se tomaron 5 g de muestra y se licuaron en 100 ml de agua bidestilada para análisis de pH en forma directa a través de un potenciómetro con electrodo de vidrio y 5 g de muestra para análisis de microorganismos.

Se utilizó un diseño totalmente aleatorizado con un arreglo en parcelas divididas y tres repeticiones, representando la parcela principal la edad de corte y la secundaria la amonificación con urea.

Para el procesamiento de la información experimental se utilizó el paquete de análisis estadístico SAS [9], efectuándose el análisis de varianza mediante el Modelo Lineal General (GLM), y el procedimiento de media por el método de las medias mínimas cuadráticas (LSMEANS).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Después del tratamiento químico el pasto sufrió alteraciones físicas, su color cambió de verde claro a verde olivo, además de que se volvió más flexible. Las alteraciones en el color y en la consistencia en el heno tratado presumiblemente son debidas al rompimiento de enlaces éster que unen los constituyentes de la pared celular, o a la condensación de azúcares con bases nitrogenadas vía la reacción de Maillard [1]. En el tratamiento con agua y sin urea se observó crecimiento de hongos color blanco, mientras que en los tratamientos con urea no se observó crecimiento alguno de microorganismos a simple vista.

Efecto de la edad de corte y de la Amonificación sobre el pH

En la TABLA I se presenta el pH para las distintas edades de corte y bajo los diferentes tratamientos con urea.

Los tratamientos con urea mostraron un efecto ($P < 0,0001$) sobre el pH. Los resultados obtenidos fueron: 5,66; 7,75; 8,56 y 8,42 para el testigo, 0, 3 y 6% de urea, resultando estadísticamente similares los promedios para 3 y 6% de urea.

Diferentes autores han reportado incrementos en el pH producto de la amonificación. Rodríguez *et al.* [8], notaron que el pH se incrementó con la adición de amonio y urea a paja de

frijol. Pabón y *col.* [6], observaron un efecto significativo de la amonificación sobre el pH en silajes de maíz. Reis y Rodríguez [7] observaron un aumento acentuado en el pH del forraje tratado con amonio durante 14 días, a su vez señala que la causa por la cual ocurre un aumento en el pH, es por que el NH₃ reacciona con el agua formando hidróxido de amonio.

La edad de corte no influyó sobre el pH, sin embargo puede apreciarse un ligero descenso desde 7,68% a los 30 días hasta 7,47% a los 86 días de edad. Esto no concuerda con lo reportado por Elizalde y *col.* [4], quienes observaron que la cosecha de forrajes en estados vegetativos más tempranos presenta pH menores que las cosechadas a estados fenológicos más tardíos.

Al analizar el efecto de la interacción de los tratamientos, se evidenció un efecto significativo sobre esta variable ($P < 0,005$).

Efecto de la Amonificación sobre la Presencia de Microorganismos

Hongos

En la TABLA II se presenta la influencia de la amonificación sobre el crecimiento de hongos en el silaje aislado en un medio de cultivo papa dextrosa agar (PDA).

En el silo sin tratamiento se observaron siete especies de hongos, entre los que se encuentran *Aspergillus sp*, *Curvularia sp*, *Rhizopus nigricans* y *Trichoderma sp*; en el tratamiento 0% de urea, al cual sólo se le agregó agua en una proporción del 40%, a simple vista se observó abundante crecimiento de hongo, y al hacer el aislamiento en PDA se encontraron las especies *Aspergillus sp*, *Colletotrichum sp*, *Fusarium oxysporium* y *Penicillium sp*.

Al realizar la amonificación con el 3% de urea las especies de hongos se limitaron a *Aspergillus sp* y *Penicillium sp*, mientras que con el 6% de urea sólo persiste *Aspergillus sp*, indicando una alta resistencia de este hongo a las aplicaciones de urea.

En la TABLA III podemos observar el tiempo que tardan en aparecer los hongos anteriormente mencionados en medio PDA. En el tratamiento 0% de urea el hongo se hace visible a las 24 horas, mientras que con 3 y 6% de urea aparece a las 144 horas. Esto podría significar que el amoníaco proveniente de la urea actúa como fungicida hasta cierto nivel para algunas especies, mientras que para otras actúa como fungistático, es decir, inhibidor del crecimiento, como es el caso del *Aspergillus sp*.

Esto coincide con lo señalado por Neher y Parra [5], que cuando la amonificación se realiza con NH₃, este se difunde por el silo y se distribuye homogéneamente, preservando además el material de la descomposición por hongos.

Tortora y *col.* [11] señalan que la presencia de materia orgánica y el pH del medio en que están presente los microorganismos podrían determinar si un agente químico es solo inhibitorio (bacteriostáticos) o si es letal para los microorganismos.

Bacterias

En la TABLA IV se pueden observar las bacterias encontradas en los tratamientos, aislados en un medio de cultivo agar carne. La amonificación con urea disminuyó notablemente la presencia de bacterias en los tratamientos, observándose la menor proporción en el tratamiento 6% de urea, entre los que

se encuentran bacilos y bacilos cortos Gram (+) y Gram (-), respectivamente.

Valiño y col. [12] reporta las especies bacterianas *Staphylococcus epidermis*, *Acinetobacter calcoaceticus* y *Proteus vulgaris*, como bacterias que desempeñan un papel relevante en la hidrólisis de la urea con la producción de NH₃, metabolito importante para algunas de estas especies para la síntesis celular.

Las especies bacterianas que fermentan la urea con producción de amoníaco como el *Bacillus pasteurii* *Sporosarcina ureae*, toleran concentraciones muy elevadas de esta sustancia, que es tóxica para la mayoría de los microorganismos [10].

Tortora y col. [11] señalan que los compuestos de amonio cuaternario son fuertemente bactericida contra bacterias Gram (+), pero no son tan eficaces frente a las bacterias Gram (-). Su nombre proviene del hecho de que son derivados del ión amonio tetravalente (NH₄⁺).

Otra de las características de los compuestos cuaternarios, es la propiedad de mostrar acción bacteriostática muy superior a la de su acción bactericida; el límite de la acción bactericida puede ser la dilución de 1:30.000, y permanecer con acción bacteriostática en diluciones tan elevadas como 1:200.000 [10].

CONCLUSIONES

La aplicación de urea aumentó significativamente el pH del heno tratado, provocando de esta manera un efecto fungistático sobre la presencia de hongos.

TABLA I
CARACTERÍSTICAS DE PH EN HENO DE BRACHIARIA HUMIDICOLA DE CINCO EDADES DE CORTE Y TRATADO CON DIFERENTES NIVELES DE UREA

Tratamiento	Edades de corte (días)					X ¹
	30	44	58	72	86	
Sin tratam.	5,56 ¹ ± 0,03	5,64 ¹ ± 0,02	5,66 ¹ ± 0,04	5,74 ¹ ± 0,01	5,72 ¹ ± 0,02	5,66 ^c
0% de urea	8,19 ^{bc} ± 0,06	7,89 ^{cd} ± 0,33	7,83 ^d ± 0,62	7,59 ^d ± 0,29	7,23 ^e ± 0,31	7,75 ^d
3% de urea	8,52 ^a ± 0,06	8,59 ^a ± 0,04	8,60 ^a ± 0,05	8,60 ^a ± 0,06	8,48 ^{ab} ± 0,06	8,56 ^a
6% de urea	8,44 ^{ab} ± 0,02	8,39 ^{ab} ± 0,05	8,39 ^{ab} ± 0,06	8,44 ^{ab} ± 0,4	8,45 ^{ab} ± 0,02	8,42 ^a
X ²	7,68 ^a	7,62 ^{ab}	7,62 ^{ab}	7,59 ^{ab}	7,47 ^b	

Medias con letras iguales no difieren entre si (P<0,05)

¹ Promedio/ tratamiento con urea.

² Promedio/ edad de corte.

TABLA II
EFFECTO DEL AMONIACO SOBRE LA PRESENCIA DE HONGOS EN HENO DE BRACHIARIA HUMIDICOLA TRATADO CON UREA

Especie	Sin tratamiento	Tratamientos con urea		
		0%	3%	6%
<i>Aspergillus nidularis</i>		*	*	*
<i>Aspergillus niger</i>	*	*	*	*
<i>Aspergillus oryzae</i>			*	*
<i>Aspergillus sp.</i>	*	*	*	*
<i>Aspergillus versicolor</i>	*	*	*	*
<i>Colletotrichum sp.</i>		*		
<i>Curvularia lanata</i>	*			
<i>Curvularia sp.</i>	*			
<i>Fusarium oxysporium</i>		*		*
<i>Penicillium digitatum</i>			*	
<i>Penicillium sp.</i>		*	*	
<i>Rhizopus nigricans</i>	*			
<i>Trichoderma sp.</i>	*			

* Existe la presencia de hongos

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] AGUILERA, A. B.; JURADO, J. A.; JUÁREZ, M. E.; PEREZ-GIL, F.; ALCÁNTARA, E. Condiciones óptimas para incrementar la digestibilidad de la paja de trigo en ovinos mediante tratamientos con amoníaco anhidro e hidróxido de calcio. *Veterinaria México*. 21(1): 9-15. 1990.
- [2] BROWN, W. Amoniación de heno y suplementación de energía y proteína para ganado de carne. **Memorias de la Conferencia Internacional sobre Ganadería en los Trópicos**. Universidad de Florida: 39 – 47. 1993.
- [3] CONRAD, J. H.; PASTRANA, B. R. Amonificación usando urea para mejorar el valor nutritivo de materiales fibrosos. En: **Conferencia Internacional sobre Ganadería en los Trópicos**. Universidad de Florida. 554 pp. 1989.
- [4] ELIZALDE, V. H. F.; TEUBER, K. N.; HARGREAVES, B. A.; LANUZA, A. F.; SCHOLZ, B. A. Efecto del estado fenológico, al corte de una pradera de *ballica perenne* con Trébol blanco, sobre el rendimiento de materia seca, la capacidad fermentativa y la calidad del ensilaje. **Agricultura Técnica Chile**. Vol 52(1): 38 - 47. 1992.
- [5] NEHER, A.; PARRA, R. Mejoramiento del valor nutritivo de pajas por medio de la amonificación. In: D. Plasse y N. Borsotti. (Eds). **IV Curso sobre bovinos de carne. Facultad de Ciencias Veterinarias**. UCV. Maracay. pp. 263 - 287. 1988.
- [6] PABÓN, R. A.; TORO, J. O.; SÁNCHEZ, H. Efecto de la amonificación sobre el valor nutritivo del ensilaje de maíz. **Acta Agronómica**. 37: 66 - 83. 1987.
- [7] REIS, R. A.; RODRÍGUEZ, L. R. Avaliação da qualidade da forragem do Capim-elefante cv. Taiwan A-148 colhido após o florescimento e submetido a aminização. **ARS Veterinaria**. 7(2): 151-159. 1991.
- [8] RODRÍGUEZ, G. F.; ZORRILLA, J. M.; MUÑOZ, C.; MARTINEZ, L. A. Efectos del tratamiento con hidróxido de amonio y urea, humedad y tiempo en la composición de la paja de frijol. *Tec. Pec. Mex.* 49: 42 - 49. 1985.
- [9] STATISTICAL ANÁLISIS SYSTEM INSTITUTE. SAS. 1988. SAS User's Guide (Release 6.03).
- [10] SENEZ, J. C. **Microbiología General**. Editorial Alhambra. Primera edición. España. 526 pp. 1976.
- [11] TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Introducción a la Microbiología**. Editorial Acirbia. S. A. Tercera edición. 792 pp. 1993.
- [12] VALIÑO, E.; ELIAS, A.; ALBELO, N. Interacciones entre la microbiota del bagazo de caña de azúcar y cultivos de *Cephalosporium sp* y *Acinetobacter calcoaceticus* mediante fermentación en estado sólido. **Rev. Cubana Cienc. Agric.** 31:293-299. 1989.