

## Modelos de predicción del valor nutricional de henos de hierba

Sonia Pereira-Crespo<sup>1,\*</sup>, Adrián Botana<sup>1</sup>, Marcos Veiga<sup>1</sup>, Laura González<sup>1</sup>, César Resch<sup>1</sup>, Valentín García-Souto<sup>1</sup>, Roberto Lorenzana<sup>2</sup>, María del Pilar Martínez-Diz<sup>1</sup> y Gonzalo Flores-Calvete<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Centro de Investigaciones Agrarias de Mabegondo (CIAM), Mabegondo, 15318 Abegondo, A Coruña, España

<sup>2</sup> Laboratorio Interprofesional Galego de Análise do Leite (LIGAL), Mabegondo, 15318 Abegondo, A Coruña, España

### Resumen

En este trabajo se evalúa la capacidad de la tecnología NIRS para estimar la composición química ( $n = 81$ ) y la digestibilidad de la materia orgánica ( $n = 52$ ) de henos de hierba procedentes de explotaciones gallegas y se desarrollan ecuaciones empíricas basadas en parámetros químicos para la estimación de la digestibilidad de la materia orgánica (DMO), comparando su capacidad predictiva con la obtenida mediante NIRS. Los valores de DMO se correspondían con determinaciones de DMO *in vivo* ( $n = 14$ ) o *in vitro* con líquido ruminal ( $n = 38$ ) corregidos con estándares de DMO *in vivo*. La capacidad predictiva de las ecuaciones NIRS obtenidas para estimar la composición química y DMO osciló entre excelente y buena, mostrando coeficientes de determinación en el proceso de validación cruzada ( $1 - VR$ ) superiores a 0,90 para todos los parámetros, excepto para el contenido en materia orgánica ( $1 - VR = 0,87$ ) y valores de la relación entre la desviación estándar y el error de predicción en validación cruzada ( $RPD$ ) superiores a 3,0 para todos los parámetros estudiados. Las ecuaciones empíricas basadas en parámetros químicos mostraron una menor aptitud predictiva de la DMO ( $1 - VR$  entre 0,70 y 0,53), mostrando la superioridad de la tecnología NIRS para predecir la DMO de henos de hierba, evidenciada al considerar que la ecuación NIRS seleccionada, comparada con la mejor ecuación química permitió reducir el error de predicción a la mitad, desde  $\pm 3,9\%$  a  $\pm 1,9\%$ . Se concluye que las calibraciones NIRS desarrolladas son una herramienta útil para la evaluación nutricional rápida y precisa de henos de pradera en análisis de rutina.

**Palabras clave:** Forrajes, digestibilidad, espectroscopía de reflectancia en el infrarrojo cercano.

### Models for prediction of nutritive value of grass hay

#### Abstract

In the present work it is studied the predictive ability of NIRS for the estimation of chemical composition ( $n = 81$ ) and organic matter digestibility ( $n = 52$ ) of permanent and temporary pasture hays, being developed empirical equations based on chemical parameters to estimate the organic matter digestibility (OMD) values and compared the predictive ability of empirical models vs. NIRS equations. The collections of sam-

---

\* Autor para correspondencia: soniapereira@ciam.gal

ples came from Galician dairy farms. The reference values of OMD corresponded to OMD *in vivo* determinations (n = 14 samples) or *in vitro* results from laboratory incubation tests using rumen fluid, which were corrected with standards of known *in vivo* digestibility (n = 38 samples). The predictive ability of the NIRS models for estimating the OMD and chemical composition ranged from excellent to good, according with the observed coefficient of determination in cross-validation ( $1 - VR$ ), higher than 0.90, except for the organic matter content ( $1 - VR = 0.87$ ), whilst the ratio of the standard deviation of the original data to standard error of cross-validation (*RPD*) values were higher than 3.0 for all the parameters studied. Applying NIRS models to the prediction of OMD of hay led to the reduction by half of the standard error of cross-validation (*SECV*) of the best empirical models, from  $\pm 3.9\%$  to  $\pm 1.9\%$ . It is concluded that the NIRS models developed in the present work as a tool for the rapid and precise nutritional evaluation of hay used in Galician dairy farms and can be satisfactorily used in routine analysis.

**Keywords:** Forages, digestibility, near infrared reflectance spectroscopy.

## Introducción

La conservación de la hierba de praderas y prados en explotaciones lecheras gallegas se realiza preferentemente mediante ensilado, recurriéndose al henificado en segundos cortes tardíos o aprovechamientos únicos de prados de siega a final de la primavera-comienzos de verano. Como se indica en el trabajo de Flores-Calvete *et al.* (2017), en las granjas lecheras de Galicia se conservan anualmente algo más de 1 millón de toneladas de materia seca (MS) de hierba, de la cual un 59 % estaría ensilada en silos convencionales, un 18 % ensilada en forma de rotopacas y el 23 % restante correspondería a rotopacas de heno de praderas y prados. Según el citado trabajo, algo más del 10 % de la ración diaria consumida por las vacas en lactación corresponde a forrajes secos, aportando el heno de hierba aproximadamente el 70 % de esta fracción.

El conocimiento preciso de la composición de los ingredientes que integran las raciones de las vacas de leche es una condición necesaria para su utilización eficiente en la alimentación animal, a través de la preparación de dietas económicas y equilibradas. La necesidad de contar con métodos que permitan realizar una evaluación nutritiva de los forrajes que componen la ración se justifica debido a la elevada variabilidad del valor nu-

tricional y de su elevada contribución relativa a la dieta consumida por los rumiantes. El ajuste de las necesidades de los animales y de las características nutricionales de los ingredientes de la ración ofertada, es un elemento fundamental para una producción rentable y respetuosa con el medio ambiente.

El valor nutritivo de los forrajes depende de tres componentes: capacidad de ingestión voluntaria (ingestibilidad), concentración energética y valor nitrogenado (Van Soest, 1994). La estimación del valor energético se realiza usualmente a partir del valor de la digestibilidad de la materia orgánica (DMO), que es el principal factor de variación de la energía disponible en los forrajes para el animal (Aufrère y Guérin, 1966). Los resultados más exactos y repetibles de la medida de DMO en forrajes se obtienen mediante determinaciones realizadas con animales (estudios *in vivo*). Este método no es práctico como análisis de rutina, siendo utilizado como referencia frente al cual se deben de comparar otros métodos indirectos de estimación. Una alternativa al procedimiento *in vivo* son los métodos *in vitro*, siendo una opción viable que permite evaluar un número elevado de muestras de forma simultánea. Numerosos estudios consideran que la determinación de digestibilidad *in vitro* corregida por estándares de digestibilidad *in vivo* conocida

proporciona una estimación fiable de la digestibilidad de los forrajes (Van der Koelen y Van Es, 1973; Lundberg *et al.*, 2004). La construcción de colecciones robustas para la predicción del valor energético de forrajes a partir de muestras de DMO *in vivo* conocida es frecuentemente inalcanzable, siendo necesario recurrir a muestras evaluadas *in vitro* debidamente corregidas por patrones obtenidos en determinaciones *in vivo*.

Desde comienzos del pasado siglo se han desarrollado modelos empíricos para la predicción de DMO que consisten básicamente en definir relaciones matemáticas entre los valores DMO *in vivo* con los resultados de los parámetros químicos analizados en el laboratorio. La estimación de la digestibilidad por esta vía se debe a la existencia de asociaciones estadísticas entre la composición química y la digestibilidad, que en muchos casos no tienen significación biológica (Cherney, 2000). Una de las consecuencias de esta aproximación empírica es que el amplio número de ecuaciones existentes en la bibliografía difieren significativamente tanto en las variables predictoras, como en los coeficientes de regresión para los mismos predictores, así como en el error de predicción. Las diversas ecuaciones obtenidas para estimar la DMO *in vivo* de los distintos tipos de forrajes en diferentes instituciones y laboratorios son por lo regular diferentes, como consecuencia de las características específicas de la colección de muestras de la que se derivan, por lo que sólo son útiles cuando las condiciones en que se realiza la predicción son semejantes a las de la colección original (López *et al.*, 2000). Al margen de la fiabilidad estadística de los modelos empíricos de predicción de la DMO *in vivo*, las limitaciones a su uso están relacionadas con la variabilidad genotípica y ambiental, la interacción entre las especies de plantas en las mezclas y la dificultad en representar en los modelos predictivos las relaciones causa-efecto entre la digestión ruminal y la composición de la planta (Van Soest, 1994).

Los análisis para determinar el valor nutricional de un forraje son lentos y costosos, lo que limita el número de muestras que un laboratorio es capaz de procesar diariamente y el uso de los resultados en la práctica. El desarrollo experimentado por la espectroscopia de reflectancia en el infrarrojo cercano (NIRS) a nivel mundial, como técnica rápida, precisa y no destructiva, en su aplicación al análisis de productos agrícolas, ha motivado que en la actualidad la tecnología de análisis NIRS esté ampliamente reconocida como una herramienta viable para abordar satisfactoriamente el problema de obtener estimaciones fiables, rápidas y económicas del valor nutricional de los alimentos del ganado, en particular de los forrajes dada a su variabilidad, incluyendo la predicción de la digestibilidad (Bastianelli *et al.*, 2018). Es necesario sin embargo tener presente que la fiabilidad de las calibraciones NIRS para estimar el valor nutricional de los alimentos depende de la calidad y de la variabilidad de los datos de referencia utilizados para obtener los modelos predictivos, siendo por lo general obtenidos mejores resultados cuando se obtienen calibraciones para los diferentes grupos o tipos de forrajes que cuando se intentan obtener modelos generales (Corson *et al.*, 1999).

El objetivo de este trabajo fue evaluar la capacidad de la tecnología NIRS para estimar la composición química y DMO de heno de hierba y desarrollar ecuaciones empíricas basadas en parámetros químicos para la estimación de la DMO, comparando su capacidad predictiva con la obtenida por NIRS.

## Material y métodos

### Material vegetal

El colectivo de muestras de heno ( $n = 81$ ) está constituida en su totalidad por muestras de hierba seca en el campo, procedentes de

praderas y prados de explotaciones lecheras de distintos puntos de Galicia, parte de las cuales se recogieron durante un proyecto realizado en el CIAM entre los años 2003 y 2004, y otra parte procede de muestras enviadas al LIGAL para su análisis entre los años 2005 y 2015. Del total de la población de muestras, se disponía de valores de DMO para 52 muestras.

### **Métodos analíticos de referencia**

La preparación de las muestras para las posteriores determinaciones por vía húmeda se realizó mediante secado en estufa de aire forzado (Unitherm, Russell-Lindsey Engineering, Birmingham, Inglaterra) a 80 °C durante 16 h. Las muestras fueron posteriormente molidas a 1 mm en un molino de martillos (Christy y Norris Ltd., Chelmsford, Inglaterra). Todas las determinaciones analíticas se realizaron por duplicado, repitiéndose el análisis cuando la diferencia entre resultados superaba el 5 % del valor medio. Los resultados se expresaron en porcentaje sobre MS corregida por humedad residual. Los procedimientos utilizados en la obtención de los valores de referencia para determinar el contenido en humedad residual de las muestras secas y molidas se realizó mediante desecación a 102 °C hasta peso constante. El contenido en materia orgánica (MO) se realizó mediante la combustión en mufla a 550 °C hasta peso constante. La proteína bruta (PB) se cuantificó a partir del nitrógeno (N) total multiplicado por 6,25. La determinación de N total se realizó mediante digestión micro Kjeldahl. Las determinaciones de fibra neutro detergente (FND) se realizaron según el procedimiento propuesto por Van Soest et al. (1991), y la de fibra ácido detergente (FAD) segundo Goering y Van Soest (1970). Estos procedimientos están adaptados al digestor Fibertec System modelo 1020 (Foss Tecator AB, Suecia).

### **Determinación de la digestibilidad in vivo**

Las evaluaciones de cada muestra problema se realizaron con un mínimo de cinco ovinos machos castrados de más de dos años de edad, de raza gallega, alojados en jaulas metabólicas dotadas de separadores de heces y orina. Los animales que disponían de bloques correctores vitamínico-mineral a libre disposición, recibieron las dietas como único alimento. El nivel de alimentación fue a nivel mantenimiento (35 g de materia seca por kg de peso vivo metabólico inicial). El alimento fue ofrecido diariamente en una única comida a primera hora de la mañana. El período pre-experimental de adaptación al alimento problema fue de 7 días, seguido de un período de adaptación a las jaulas metabólicas y de ajuste de ingestión voluntaria de otros 7 días de duración, donde se pesó diariamente el alimento ofrecido y rechazado por los animales, seguido por 11 días continuados de control de ingestión voluntaria y producción de heces. Diariamente se realizó la pesada y muestreo del alimento ofrecido y las heces producidas, así como del alimento rechazado, en su caso, para cada animal.

El muestreo fue realizado una sola vez al día, tomándose una alícuota del 10 % del alimento ofrecido y rechazado, y el 20 % de las heces producidas para cada animal. Las muestras tomadas diariamente se mantuvieron congeladas a -20 °C hasta su análisis.

A partir de los resultados de la evaluación *in vivo* se calculó para cada animal utilizado en el ensayo el valor de la digestibilidad aparente *in vivo*. Para ello se utilizó la expresión

$$CD = \frac{\sum X_i - \sum X_e}{\sum X_i} \times 100$$

donde *CD* es el coeficiente de digestibilidad aparente (en %), del constituyente *X* (MS, MO), siendo  $\sum X_i$  y  $\sum X_e$  respectivamente, las cantidades ingeridas y excretadas por el animal de dicho constituyente durante los 11 días de control que duró el ensayo.

### Determinación da digestibilidad *in vitro*

La digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica fue determinada mediante el procedimiento descrito por Tilley y Terry (1963) modificado por Alexander y McGowan (1966), utilizando como animales donantes de inóculo ruminal dos vacas secas canuladas en el rumen, alimentadas a nivel de mantenimiento con una dieta compuesta por heno de buen calidad y un concentrado a base de harina de cebada y soja (18 % PB). Las muestras se incubaron por duplicado, siendo repetido el análisis cuando la diferencia entre repeticiones excedía el valor del 5 % de la media. A fin de controlar la variabilidad entre series de análisis sucesivas, los resultados de digestibilidad *in vitro* se corrigieron utilizando un conjunto de tres muestras de referencia cuya digestibilidad *in vivo* era conocida, colocados por duplicado al inicio, mitad y al final de cada serie. La corrección se ajustó

a la expresión  $Dx_c = \frac{Dr_m}{Dr_i} Dx_i$ , donde:  $Dx_c$  es

el valor de la digestibilidad *in vitro* corregida para la muestra problema  $x$ ,  $Dr_m$  es el valor medio de la digestibilidad *in vitro* de las muestras de referencia en las sucesivas tandas y  $Dr_i$  es la digestibilidad *in vitro* de las muestras de referencia en la tanda  $i$ . Posteriormente, los valores de digestibilidad *in vitro* de cada muestra se expresaron como digestibilidad *in vivo* a través de una ecuación de paso ( $DMO_{ij} = \alpha_i + \beta_i DoTT_{ij}$ ) donde  $DMO_{ij}$  y  $DoTT_{ij}$  son los respectivos valores de la digestibilidad *in vivo* e *in vitro* de la muestra  $j$  en la serie  $i$ , y  $\alpha_i$  y  $\beta_i$  son los coeficientes de la ecuación de regresión construida para la serie  $i$  a partir de los valores *in vivo* e *in vitro* de las muestras patrón de referencia.

De la colección de muestras se disponía de los valores de digestibilidad *in vivo* e *in vitro*. Cuando se daba este caso, se mantuvo el valor de la DMO *in vivo* ( $n = 14$ ) como valor de referencia, siendo utilizado el valor *in vitro*

corregido por estándares ( $n = 38$ ) en caso contrario.

### Error estándar de los métodos de referencia

Para evaluar los resultados de las ecuaciones NIRS en relación al error del método de referencia, se calculó el error estándar del método de referencia (*SEL*) para cada parámetro, realizado a partir de la varianza entre replicados de la misma muestra según la fórmula

$$SEL = \sqrt{\frac{\sum_i \left[ \frac{(\sum_j (X_{ij} - \bar{X}_j)^2)}{(Rep - 1)} \right]}{n}} \quad (\text{Windham et al., 1989})$$

donde  $X_{ij}$  es el replicado  $j$  de la muestra  $i$ ,  $\bar{X}_j$  es la media de los replicados de la muestra  $i$ ,  $Rep$  es el número de replicados y  $n$  es el número de muestras. Los valores de *SEL* de los métodos de referencia del presente trabajo figuran en la Tabla 1.

### Análisis estadístico en la construcción de las ecuaciones de regresión basadas en parámetros químicos

Para la colección de muestras de las que se disponía valores de DMO ( $n = 52$ ) se desarrollaron ecuaciones de regresión basadas en parámetros químicos, persiguiendo el objetivo de establecer una base de comparación de la capacidad predictiva de este modelo y el obtenido mediante la tecnología NIRS, aplicada a la estimación del valor nutricional de henos de hierba utilizados en las explotaciones lecheras de Galicia.

Se examinaron las relaciones entre los valores de DMO y las determinaciones de laboratorio mediante análisis de correlación y de regresión lineal simple y múltiple, acompañada de un proceso de regresión paso a paso, siendo seleccionados los mejores modelos uni y multivariantes en cuanto a porcentaje

Tabla 1. Error estándar del método de referencia para la determinación de la composición química y digestibilidad *in vitro* e *in vivo*.  
 Table 1. Standard error of laboratory of chemical composition and digestibility *in vitro* and *in vivo* for reference data set.

Parámetro	Media	SEL	CV
Composición química (% MS)			
MO	87,63	0,57	0,65
PB	11,30	0,50	4,48
FND	44,34	1,74	3,92
FAD	36,22	1,18	3,26
Digestibilidad (%)			
DoTT <sup>†</sup>	64,77	1,94	3,00
DMO <i>in vivo</i>	66,83	2,33	3,49

SEL: error estándar de laboratorio; CV: coeficiente de variación; MS: materia seca (%); MO: materia orgánica (%MS); PB: proteína bruta (%MS); FND: fibra neutro detergente (%MS); FAD: fibra ácido detergente (%MS); DoTT: digestibilidad de la MO *in vitro* método Tilley-Terry (%); DMO: digestibilidad de la MO (%).

<sup>†</sup> no corregido por estándares *in vivo*.

de varianza explicada de la variable dependiente. Los procedimientos utilizados fueron CORR, STEPWISE, GLM y REG del paquete estadístico SAS v. 9.4 (SAS Institute, 2012).

En la construcción de los modelos predictivos se utilizó el método "leave one out" (Massart et al., 1997) un proceso secuencial de validación cruzada, en el cual del conjunto de calibración era excluida secuencialmente una de las muestras, sobre la que se realizó la validación de la predicción a partir del modelo de calibración generado. Repetido el proceso un número de veces igual al número total de muestras, se computó el error estándar de validación cruzada (SECV) a partir de los errores de estimación ( $e_i$ = diferencia entre el valor observado y el predicho por el modelo) de las muestras del conjunto de validación

como  $SECV = \sqrt{\frac{\sum e_i^2}{n-1}}$ , siendo  $n$  el número total

de muestras de la colección. Fueron excluidos los modelos con un porcentaje de varianza explicada en validación cruzada inferior al 20 % así como aquellos que incluían como predictores variables con un elevado grado de colinealidad, dado su efecto negativo en la estabilidad de los coeficientes de los modelos de regresión, siendo aquel estimado a través de las herramientas de diagnóstico del procedimiento REG de SAS.

### Análisis e instrumentación NIRS

La información espectral de las muestras se registró en un espectrofotómetro monocromador de espectro continuo Foss NIRSystem 6500 (Foss NIRSystem, Silver Spring, Washington, USA), situado en una sala con temperatura controlada ( $24 \pm 1$  °C).

El instrumento estaba dotado de un módulo de giro y realiza medidas de reflectancia ( $R$ ) en la región espectral comprendida entre 1100 nm y 2500 nm, con una resolución espectral de 2 nm. El análisis NIRS se realizó durante los años 2015 y 2016, permaneciendo las muestras envasadas al vacío en bolsas laminadas de poliamida/polietileno en una cámara a 4 °C hasta su análisis.

Los datos espectrales se recogieron por duplicado de cada muestra y cada espectro que se registraba con el equipo era el promedio de 32 barridos de la radiación (*scans*) sobre la muestra, siendo expresados los datos de absorbancia como  $\log(1/R)$ . La recogida de datos espectrales y el análisis quimiométrico de los datos se realizó mediante el programa WinISI II v.1.5 (Infrasoft International, Port Matilda, PA, USA, 2000).

### **Tratamiento quimiométrico de los datos espectrales**

Mediante el algoritmo CENTER (Shenk y Westerhaus, 1991) del software WinISI, se realizó un Análisis de Componentes Principales, seguido del cálculo de distancias entre espectros en un espacio  $n$ -dimensional a través de la distancia de Mahalanobis, la cual permitió estudiar la estructura y variabilidad espectral de la población y detectar muestras anómalas, siendo identificadas como muestras atípicas (*outliers* espectrales) aquellas con valores  $>3$  (Shenk y Westerhaus, 1991). Aquellos espectros anómalos fueron eliminados, repitiendo el proceso de detección y eliminación de anómalos espectrales hasta conseguir que todas las muestras presentaran un valor de GH inferior al valor máximo recomendado.

Los pretratamientos espectrales evaluados fueron: SNV (*Standard normal variate*); DT (*Detrend*), la combinación de ambos (SNV+D) (Barnes et al., 1989) y W-MSc (*Weighted multiplicative scatter correction*) (Shenk y Westerhaus, 1993), combinados con derivadas como:

1,4,4,1; 1,5,5,1; 1,6,4,1; 1,8,4,1; 1,10,5,1; 1,10,10,1; 2,4,4,1; 2,5,5,1; 2,6,4,1; 2,8,4,1; 2,10,5,1; 2,10,10,1; donde el primer dígito expresa el orden de la derivada (1= primera derivada, 2= segunda derivada), el segundo dígito indica el tamaño del segmento sobre el cual se realiza la derivación (intervalo expresado en nanómetros) y el tercero y cuarto dígito indican el tamaño de los intervalos, expresados en nanómetros, utilizados para el cálculo de suavización de la derivada (Shenk y Westerhaus, 1995).

Las ecuaciones de calibración fueron generadas por regresión de mínimos cuadrados parciales modificada (MPLS, Martens y Næs, 1987) entre los datos espectrales y los valores de referencia, aplicándose el procedimiento de validación cruzada para determinar el número óptimo de términos de la ecuación y para identificar los espectros anómalos químicos. Se incluyeron cuatro grupos de validación cruzada para prevenir el sobreajuste, que fueron secuencialmente utilizados para efectuar la validación de las ecuaciones generadas. Además, durante el proceso de desarrollo de cada ecuación de calibración se aplicaron como máximo 2 etapas de eliminación de anómalos químicos ( $T > 2,5$ ; Mark y Workman, 2003). Los modelos de predicción de composición química y digestibilidad de la materia orgánica no fueron objeto de validación externa, dado al reducido tamaño de la colección de datos.

## **Resultados**

### **Ecuaciones empíricas para la predicción de DMO**

#### *Valores medios de la colección*

En la Tabla 2 se muestran los valores de la colección de los henos de hierba ( $n = 52$ ) que fueron utilizados para desarrollar las ecuaciones de predicción de la digestibilidad de la

Tabla 2. Composición química y digestibilidad de la materia orgánica de la colección de muestras de henos de hierba utilizadas en la obtención de ecuaciones empíricas para la predicción de la digestibilidad de la materia orgánica.

Table 2. Reference data for chemical composition and organic matter digestibility of hays samples used to obtain empirical equations for prediction of organic matter digestibility.

Parámetro	n	Media	SD	CV	Max	Min
MO	52	94,1	2,04	2,16	93,2	87,8
PB	52	6,8	2,23	32,95	16,7	3,8
FND	52	70,1	6,96	9,92	84,9	43,9
FAD	52	40,8	4,27	10,47	53,8	29,8
HCEL	52	29,3	4,43	15,11	35,7	14,1
DMO	52	50,8	7,14	14,04	66,9	28,4

MS: materia seca; MO: materia orgánica (%MS); PB: proteína bruta (%MS); FND: fibra neutro detergente (%MS); FAD: fibra ácido detergente (%MS); HCEL: hemicelulosa (%MS); DMO: digestibilidad de la MO (%); n: número de muestras; SD: desviación estándar; CV: coeficiente de variación; Max: valor máximo; Min: valor mínimo.

materia orgánica en base a la composición química de las muestras. Los contenidos medios (y rango de variación), expresados en % MS, fueron MO: 94,1 (87,8 a 93,2); PB: 6,8 (3,8 a 16,7); FND: 70,1 (43,9 a 84,9); FAD: 40,8 (29,8 a 53,8) y HCEL: 29,3 (14,1 a 35,7). El valor medio de DMO fue de 50,8 %, oscilando entre un valor mínimo de 28,4 % y un máximo de 66,9 %.

#### Correlaciones entre composición química y digestibilidad

La matriz de correlaciones entre los parámetros de composición química y la digestibilidad de la materia orgánica para el conjunto de muestras de heno se muestra en la Tabla 3. Fue observada la existencia de una alta correlación negativa ( $p < 0,001$ ) entre el valor de DMO y las diferentes fracciones de la fibra, especialmente con el contenido en FND ( $r = -0,85$ ) y FAD ( $r = -0,75$ ), siendo inferior, en valor absoluto, para el contenido en HCEL

( $r = -0,61$ ). La correlación de DMO con el contenido en MO fue también de signo negativo ( $r = -0,59$ ), mientras que con el contenido en PB fue de moderada intensidad y de signo positivo ( $r = 0,69$ ), altamente significativas ( $p < 0,001$ ) en ambos casos.

Se detectaron, por otra parte, la existencia de correlaciones significativas de signo negativo entre el contenido en PB y el de las diferentes fracciones de la fibra, con valores de  $r$  de  $-0,76$  para FND,  $-0,64$  para FAD y de  $-0,57$  para HCEL ( $p < 0,001$ ). A pesar de que los henos provienen por lo general de cortes más o menos tardíos de hierba en su segundo o tercer ciclo de crecimiento, las asociaciones descritas ilustran la típica evolución de los valores de digestibilidad y proteína, por una parte, y los de fibra, por otra, con el avance de la madurez de la hierba, con valores de DMO y PB más altos y valores de fibra más bajos en la hierba de menor edad y lo contrario en la hierba más madura.

Tabla 3. Matriz de correlaciones entre parámetros de composición química y digestibilidad de la materia orgánica de la colección de muestras de henos de hierba utilizada para la obtención de ecuaciones empíricas para la predicción de digestibilidad de la materia orgánica.

Table 3. Correlation matrix between chemical parameters and organic matter digestibility of the hays samples set used to obtain empirical equations for prediction organic matter digestibility.

		PB	FND	FAD	HCEL	DMO
MO	<i>r</i>	-0,50	0,55	0,31	0,56	-0,59
	<i>p</i>	***	***	*	***	***
PB	<i>r</i>	–	-0,76	-0,64	-0,57	0,69
	<i>p</i>		***	***	***	***
FND	<i>r</i>	–	–	0,79	0,81	-0,85
	<i>p</i>			***	***	***
FAD	<i>r</i>	–	–	–	0,28	-0,75
	<i>p</i>				*	***
HCEL	<i>r</i>	–	–	–	–	-0,61
	<i>p</i>					***

MS: materia seca; MO: materia orgánica (%MS); PB: proteína bruta (%MS); FND: fibra neutro detergente (%MS); FAD: fibra ácido detergente (%MS); HCEL: hemicelulosa (%MS); DMO: digestibilidad de la MO (%); *r*: coeficiente de correlación de Pearson; *p*: significación (\*\*\*)  $p < 0,001$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*  $p < 0,05$ ).

#### Ecuaciones de predicción de DMO basadas en parámetros químicos

Las ecuaciones de regresión seleccionadas, así como los estadísticos de calibración y de validación cruzada se muestran en la Tabla 4, estando aquellas ordenadas de mayor a menor por el porcentaje de varianza explicada en calibración. Dado el relativamente pequeño tamaño de la colección, no se realizó una validación externa de las ecuaciones. Una ecuación con FND como único predictor explicó el 70 % de la varianza en validación cruzada, con un error de predicción de *SECV* de  $\pm 3,91$  %, no viéndose mejorada su predicción por la inclusión de ningún otro parámetro químico. La varianza explicada por la ecuación de dos variables, con FAD y PB como predictores fue considerablemente más baja ( $1 - VR = 0,57$ ) y el error de predicción más

elevado (*SECV* =  $\pm 4,70$  %) comparado con el modelo anterior. La ecuación con FAD como único predictor empeoró ulteriormente los resultados de la predicción, con un valor de  $1 - VR$  de 0,53 y *SECV* de  $\pm 4,86$  %. Los valores de los estadísticos *RPD* y de *RER* para las tres ecuaciones fueron, respectivamente, de 1,82 y 9,84 para la primera, de 1,51 y 8,19 para la segunda y de 1,46 y 7,92 para la tercera.

Shenk et al. (2001) indican, que valores del coeficiente de determinación en validación cruzada ( $1 - VR$ ) entre 0,70 y 0,89 muestran un razonable ajuste para el modelo de predicción, mientras que valores entre 0,50 y 0,69 permitirían solo una predicción cualitativa básica. Por otra parte, Williams (2001) indica que valores de *RPD* entre 1,5 y 2,0 permiten una predicción cualitativa básica. Atendiendo a estos criterios, las dos primeras ecuaciones

Tabla 4. Ecuaciones de predicción de la digestibilidad de la materia orgánica de henos en base a parámetros químicos.

Table 4. Equations for the prediction of organic matter digestibility of hays based on chemical parameters.

	Ecuación			Calibración		Validación cruzada	
				R <sup>2</sup>	SEC	1-VR	SECV
<b>DMO =</b>	111,83	-0,86 FND		0,71	3,82	0,70	3,91
s.e.	± 5,41	± 0,076					
<i>P</i>	***	***		***		***	
<b>DMO =</b>	79,30	-0,88 FAD	+1,11 PB	0,63	4,38	0,57	4,70
s.e.	± 9,39	± 0,18	± 0,35				
<i>P</i>	***	***	**	***		***	
<b>DMO =</b>	102,09	-1,25 FAD		0,56	4,75	0,53	4,86
s.e.	± 6,38	± 0,15					
<i>P</i>	***	***		***		***	

DMO: digestibilidad de la materia orgánica (%); MS: materia seca; FND: fibra ácido detergente (%MS); FAD: fibra ácido detergente (%MS); PB: proteína bruta (%MS); s.e: error estándar del coeficiente de la ecuación de regresión; *P*: significación del coeficiente de la ecuación de regresión (\*\*\*  $P < 0,001$ ; \*\*  $P < 0,01$ ); R<sup>2</sup>: coeficiente de determinación del modelo de calibración; SEC: error estándar de calibración; 1-VR: coeficiente de determinación en validación cruzada; SECV: error estándar de validación cruzada.

tendrían utilidad para realizar una predicción aproximada cualitativa de la digestibilidad, estando la ecuación basada en FAD en el límite de la utilidad práctica para la estimación de la DMO en colecciones de henos de pradera con una composición semejante a la de la colección utilizada para obtener los modelos de predicción.

#### **Ecuaciones NIRS para predicción de la composición química y DMO**

Las características descriptivas de los parámetros de composición química y DMO del colectivo de muestras utilizadas para el desarrollo de modelos de predicción NIRS se indican en la Tabla 5. Los valores medios (y rango de variación) de la composición química de las muestras del colectivo de calibración (en %

MS) fueron MO: 93,2 (87,5 a 93,2); PB: 8,0 (3,8 a 17,4); FND: 65,7 (36,6 a 84,9) y FAD 38,4 (17,7 a 53,8). El valor medio de DMO fue de 50,8 %, con un rango de variación de 28,4 % a 66,9 %. El colectivo presenta una elevada variabilidad para todos los parámetros estudiados, indicando la diversidad de muestras incluidas en este producto.

Los modelos de predicción NIRS obtenidos a partir de la segunda derivada permitieron obtener estimaciones más precisas y exactas para la estimación de los parámetros de contenido en PB, FND y la DMO, mientras que para MO y FAD se obtuvieron con la primera derivada. Las ecuaciones NIRS para la estimación de MO, FND y DMO se construyeron utilizando el método SNV+D como pretratamiento espectral, mientras que para la predicción del contenido en PB y FAD el procedi-

Tabla 5. Estadísticos de calibración y validación cruzada de las ecuaciones NIRS para la estimación de la composición química y de la digestibilidad de la materia orgánica de muestras de henos.

Table 5. Statistics of calibration and cross validation of NIRS equations for the prediction of chemical composition and organic matter digestibility of hays.

Parámetro	Scatter	Tratamiento matemático	Calibración					Validación cruzada								
			n	Outliers	T	Media	SD	Min	Max	Rango	R <sup>2</sup>	SEC	1-VR	SECV	RPD	RER
MO	SNV+D	1,10,10,1	81	5	8	93,2	2,5	87,5	93,2	5,7	0,93	0,60	0,87	0,78	3,2	7,4
PB	W-MSC	2,10,10,1	81	2	5	8,0	3,4	3,8	17,4	13,5	0,97	0,50	0,97	0,58	5,9	23,3
FND	SNV+D	2,10,5,1	81	3	5	65,7	9,9	36,6	84,9	48,3	0,97	1,53	0,97	1,79	5,5	26,9
FAD	W-MSC	1,10,10,1	81	1	7	38,4	6,0	17,7	53,8	36,0	0,95	1,38	0,92	1,77	3,4	20,4
DMO	SNV+D	2,10,5,1	52	2	5	50,8	7,1	28,4	66,9	38,5	0,94	1,53	0,91	1,93	3,7	19,9

W-MSC: multiplicative scatter correction; SNV+D: standard normal variate+detrend; n: número de observaciones; Outliers: número de muestras anómalas eliminadas; T: número de factores de la regresión; SD: desviación estándar; Min: valor mínimo; Max: valor máximo; SEC: error estándar de calibración; R<sup>2</sup>: coeficiente de determinación del modelo de calibración; SEC: error estándar de calibración; 1-VR: coeficiente de determinación en validación cruzada; SECV: error estándar de validación cruzada; RPD: ratio entre la desviación estándar y el error de predicción en validación cruzada; RER: ratio entre rango de valores y el error de predicción en validación cruzada; MS: materia seca; MO: materia orgánica (%MS); PB: proteína bruta (%MS); FND: fibra neutro detergente (%MS); FAD: fibra ácido detergente (%MS); DMO: digestibilidad de la materia orgánica (%).

miento W-MSR permitió optimizar el modelo de predicción. El número de muestras eliminadas como anómalas osciló entre 1,2 % y 6,1 % del total de muestras iniciales de la colección en la construcción de las ecuaciones de predicción de parámetros químicos y fue del 3,8 % para el caso de la predicción de DMO.

Los coeficientes de determinación en el proceso de validación cruzada ( $1 - VR$ ) fueron superiores a 0,90 para todos los parámetros, a excepción del contenido en MO ( $1 - VR = 0,87$ ), indicando una excelente o buena calidad en la predicción de todas las variables (Shenk et al., 2001) cuando las ecuaciones se aplican a colecciones de muestras de similares características que las de la colección de calibración utilizada en este trabajo. Las ecuaciones con los mayores valores de  $1 - VR$  fueron las obtenidas para la predicción *SECV* de PB y FND (0,97 en ambos casos), seguidas de FAD (0,92) y DMO (0,91). Los valores de los errores de predicción fueron  $\pm 0,78$  % para MO,  $\pm 0,58$  % para PB,  $\pm 1,79$  % para FND,  $\pm 1,77$  % para FAD y  $\pm 1,93$  % para DMO. Los valores de los estadísticos *RPD* y *RER* fueron, respectivamente, de 3,2 y 7,4 para MO, de 5,9 y 23,3 para PB, de 5,5 y 26,9 para FND, de 3,4 y 20,4 para FAD y de 3,7 y 19,9 para DMO. Los valores de *RPD* de todas las ecuaciones fueron superiores al valor de 3,0; lo que indica una buena capacidad predictiva cuantitativa, siguiendo los criterios de Williams (2001) y de Williams y Sobering (1996).

## Discusión

Los datos medios de composición química y de la digestibilidad de la materia orgánica de la colección de henos de hierba utilizada en el presente trabajo muestran un bajo valor

nutritivo medio de este forraje, utilizada en las explotaciones lecheras básicamente como fuente de fibra en la alimentación de los animales. Los valores de la colección pueden considerarse representativos de las características de los utilizados en las explotaciones lecheras de Galicia, que proceden por lo general de segundos o terceros aprovechamientos del pasto en el mes de julio, coincidiendo con el inicio de la sequía estival donde se dan las condiciones de temperatura y humedad relativa para curar el heno en el campo, o en el mes de agosto en las zonas más frescas, por lo general con escasa presencia de gramíneas, siendo aprovechados en un estado de madurez avanzado. La composición media y la variabilidad de las muestras de henos de hierba procedentes de explotaciones lecheras colaboradoras en diferentes proyectos realizados en el CIAM entre 2013 y 2019<sup>1</sup> (G. Flores, comunicación personal) son comparables con los de esta colección, con valores medios y rangos de variación de la composición química (en %MS) de 93,3 (90,7 a 95,9) para MO; 7,3 (4,8 a 12,9) para PB; de 69,2 (56,0 a 82,6) para FND; de 42,8 (34,5 a 50,9) para FAD, siendo el valor medio de DMO de 45,1 % con rango de 30,0 % a 58,3 %. El parámetro más variable fue el contenido en PB ( $CV = 31,2$  %) seguido de DMO ( $CV = 13,1$  %) y los menos variables fueron FAD y FND ( $CV = 8,3$  % y 8,6 %, respectivamente) y, sobre todo, MO ( $CV = 1,2$  %) lo cual se asemeja, en líneas generales, con lo observado en la colección de muestras de heno de hierba utilizada en este trabajo. En las Tablas INRA (2010), para los henos de praderas naturales y de especies gramíneas (raigrás, dácilo y bromo) secados al sol en cortes de 2º ciclo con rebrotes poco foliáceos, se indican valores de composición química (en %MS) de entre 6,6 y 12,5 para PB, de entre 61,2 y

(1) Proyectos RTA2012-00065-C05-02 y RTA2014-00086-C03-03 financiados por INIA y proyectos FEADER2016-59B y FEADER2017-022B financiados por la Xunta de Galicia.

72,3 para FND y de entre 32,1 y 41,2 para FAD, siendo el rango de valores para DMO de entre 50,0 % y 67,0 %. Los valores de las Tablas FEDNA (2016) para henos de raigrás, por ejemplo, indican una calidad muy superior a los de la colección utilizada en el presente trabajo, con valores medios de 15,6 % MS para PB (rango 10,5 a 22,3) y de 63,0 % para DMO (rango 55,9 a 63,0), estando próximos los valores de DMO de nuestra colección al de los henos de raigrás de 5ª categoría (50,6 %) de las citadas Tablas.

### **Ecuaciones empíricas**

La capacidad predictiva de las ecuaciones químicas para la estimación de la DMO de henos de hierba seleccionadas en el presente trabajo, se consideró mediocre, aplicando los criterios de Shenk *et al.* (2001) y de Saeys *et al.* (2005) a los estadísticos de validación cruzada, que para la primera ecuación basada en FND mostró valores de *RPD* próximos a 2 y de *RER* próximos a 10, siendo considerada de baja calidad para las otras dos con valores de *RPD* próximos a 1,5 y de *RER* próximos a 8,0.

Los resultados de diversos autores de la bibliografía muestran el moderado poder predictivo de la DMO conseguido por las ecuaciones basadas en parámetros químicos, lo cual coincide en líneas generales con los resultados obtenidos en el presente trabajo. Por ejemplo, en el trabajo de Van der Koelen y Van Es (1973) realizado sobre una diversa colección de forrajes holandeses, se reporta la superioridad para la predicción de DMO *in vivo* de la técnica con inóculo ruminal *in vitro* (Tilley y Terry, 1963) corregida por estándares frente a técnicas de laboratorio alternativas indicando que, para el grupo de muestras de henos, el coeficiente de determinación y el

valor de la desviación estándar residual de la ecuación de regresión entre los valores de DMO *in vivo* y los predichos por ecuaciones basadas en FND, FAD y LAD eran de 0,68 a 0,70 para  $R^2$  y de  $\pm 2,51$  % a  $\pm 2,57$  % para el error mínimo de predicción en calibración (*RSD*). En un trabajo posterior Aerts *et al.* (1977) para una colección de 42 muestras de henos de hierba, indican valores del coeficiente de determinación en calibración de 0,35; de 0,53 y de 0,68 para ecuaciones de regresión basadas en FB, FAD y LAD, respectivamente.

Como resultado de los trabajos realizados por la *American Forage and Grassland Council* con la finalidad de establecer criterios de calidad para los henos de gramíneas y leguminosas de los Estados Unidos, Rohweder *et al.* (1978)<sup>2</sup> publicaron diversas ecuaciones para estimar la digestibilidad *in vivo* de la materia seca a partir de la FAD, indicando que el porcentaje de varianza explicada por la ecuación seleccionada para henos de alfalfa, basada en el contenido en FAD era del 68 %, mientras que dicho valor para la ecuación de heno de gramíneas y utilizando el mismo predictor se reducía al 48 %.

Utilizando una colección de 31 henos de prados franceses, Jarrige (1980) indica que las ecuaciones de regresión para la predicción del valor de DMO basadas en los contenidos en PB y FAD, PB y FB y PB y FND mostraban valores del error mínimo de predicción en calibración (*RSD*) de  $\pm 3,2$  %,  $\pm 3,5$  % y  $\pm 3,9$  %, respectivamente. Para una pequeña colección de muestras de henos de gramíneas y mezclas con leguminosas de Japón donde se midió el valor de la DMO *in vivo* a partir del cual se calculó el valor de la concentración total de nutrientes digestibles (TDN), Abe (1984) indica que las ecuaciones de predicción de TDN basadas en FAD o en FB permi-

(2) Ecuaciones de Rohweder *et al.* (1978) para estimar DMS (%) a partir del contenido en FAD (%MS): para henos de alfalfa,  $DMS = 65,5 + 0,975FAD - 0,027FAD^2$  y para henos de gramíneas,  $DMS = 41,9 + 2,15FAD - 0,0433FAD^2$ .

tían explicar únicamente el 38 % y el 36 % de la varianza con un *RSD* de  $\pm 5,2$  % y  $\pm 5,3$  % unidades, respectivamente, indicando un poder predictivo medio-bajo de las ecuaciones.

Moss y Givens (1990) obtuvieron ecuaciones de predicción de DOMD *in vivo* basadas en la composición química de una colección de 76 muestras de henos de hierba del Reino Unido indicando que los valores del coeficiente de determinación y del error de predicción en validación externa fueron semejantes para las ecuaciones basadas en FB ( $r = 0,44$  y  $SEP = \pm 5,0$  %), en FAD ( $r = 0,57$  y  $SEP = \pm 4,4$  %) y en LAD ( $r = 0,49$  y  $SEP = \pm 4,7$  %) como predictores. En colecciones más reducidas de henos de hierba también evaluados *in vivo*, Carro et al. (1994) reportan valores respectivos de  $R^2$  y *RSD* de  $0,64$  y  $\pm 4,4$  % para una ecuación basada en FND y de  $0,68$  y  $\pm 3,8$  % para otra ecuación con FAD como predictores de DMS construidas a partir de una colección de 11 henos de hierba, mientras que Khazaal et al. (1995) indican valores de  $R^2$  y *RSD* en calibración de, respectivamente,  $0,32$  y  $\pm 6,1$  % y de  $0,42$  y  $\pm 5,7$  % para ecuaciones de predicción de DMO *in vivo* de 10 henos de gramíneas basadas en FAD y LAD.

Para una colección de 22 henos con valor de DMO *in vivo* conocida, De Boever et al. (1999) obtuvieron ecuaciones de regresión basadas en parámetros químicos con valores de  $R^2$  y *RSD* de  $0,63$  y  $\pm 4,4$  % para una ecuación basada en FB, de  $0,82$  y  $\pm 3,1$  % para la basada en LAD y de  $0,86$  y  $\pm 2,7$  % para la basada en FB y LAD, respectivamente, siendo los valores del ratio *SD/RSD* y de *RER* de 1,6 y 6,0, de 2,3 y 8,5 y de 3,1 y 9,8; respectivamente, mostrando un mejor comportamiento predictivo las ecuaciones que incluían la concentración de lignina como predictor y evidenciando

una capacidad predictiva entre mediocre y aceptable para las ecuaciones empíricas, debiendo señalarse, sin embargo, el escaso número de muestras de la colección de henos como para considerar suficientemente robustas las ecuaciones que, en todo caso, no fueron objeto de validación externa.

En la publicación de las Tablas INRA (2010) se ofrecen ecuaciones de predicción basadas en los contenidos en PB y FAD para la estimación de la digestibilidad de la materia orgánica de muestras de henos<sup>3</sup>, diferenciadas para henos de pradera permanente ( $n=54$ ), henos de gramíneas ( $n=74$ ) y henos de leguminosas ( $n=20$ ) con valores respectivos del coeficiente de determinación en calibración  $R^2$  y del error mínimo de predicción *RSD* de  $0,74$  y  $\pm 2,6$  %, de  $0,72$  y  $\pm 2,7$  % y de  $0,78$  y  $\pm 1,9$  %, pero no se indican los estadísticos de validación de las mismas.

Los estadísticos de calibración de las ecuaciones empíricas para la estimación de DMO de henos de hierba obtenidas en el presente trabajo ( $R^2$  entre  $0,71$  y  $0,56$  y *RSD* entre  $\pm 3,8$  % y  $\pm 4,7$  %) se encuentran dentro del rango de valores del conjunto de trabajos anteriormente indicados, que oscilaron en un amplio rango ( $R^2$  entre  $0,32$  a  $0,86$  y *RSD* entre  $\pm 1,9$  % y  $\pm 6,1$  %), dependiendo de las características de la colección y de los predictores utilizados, debiendo ser indicado que en la mayor parte de los casos las ecuaciones publicadas en la bibliografía no fueron validadas, con el cual se carece de información acerca de la robustez y fiabilidad de la predicción, pudiendo ser juzgadas únicamente por los estadísticos de calibración. Como indican Ribeiro y Moreira (1998), por lo general los métodos químicos son menos fiables que otros métodos alternativos, pero en oca-

(3) Las ecuaciones para la estimación de DMO (%) de henos de hierba propuestas en las Tablas INRA (2010) basadas en los contenidos de FAD y PB (%MS) son: para pastos permanentes,  $DMO = 58,5 - 0,26 FAD + 1,04 PB$ , para henos de gramíneas  $DMO = 104,9 - 1,27 FAD + 0,14 PB$  y para henos de leguminosas  $DMO = 98,5 - 1,14 FAD$ .

siones son la única opción posible. En este caso, se deben tomar dos precauciones: la primera es relativa al uso de ecuaciones debidamente validadas y en segundo lugar y conectado con ésta, dado el efecto de los factores relacionados con el tipo de especies de pasto, clima, suelo, manejo del cultivo y post-cosecha sobre los coeficientes de las ecuaciones, debe ser tomada la precaución de no realizar su aplicación fuera de las condiciones en que fueron obtenidos los modelos de predicción, bajo pena de incrementar el error de las estimaciones en una magnitud no conocida a priori.

#### **Ecuaciones NIRS para la estimación de la composición química y DMO**

Las ecuaciones NIRS obtenidas en el presente trabajo para la predicción de los contenidos en PB, FND y FAD de las muestras de henos de hierba mostraron una excelente o buena calidad, atendiendo a los criterios de Williams (2001) y de Williams y Sobering (1996), con valores del coeficiente de determinación en validación cruzada superiores o próximos a 0,90 y de *RPD* superiores a 3,0. La ecuación NIRS seleccionada para la estimación del valor de DMO fue de excelente calidad, con valores de 0,91 para  $1 - VR$ , 3,7 para *RPD* y  $\pm 1,9$  % para el error de predicción *SECV*. La superioridad mostrada por NIRS sobre las ecuaciones empíricas en la predicción de DMO de henos de hierba se hace evidente al considerar que la ecuación NIRS seleccionada, comparada con la mejor ecuación química, aumentó el porcentaje de varianza explicada en validación cruzada desde 0,70 a 0,91 y redujo el error de predicción de la ecuación empírica a algo más de la mitad, desde  $\pm 3,9$  % a  $\pm 1,9$  %.

En cuanto a la predicción de la composición química de henos de hierba mediante NIRS, Jones et al. (1987) desarrollaron ecuaciones NIRS para estimar los contenidos en PB y FAD de henos de hierba, obteniendo valores del coeficiente de determinación en validación

cruzada superiores a 0,70 y valores de *RPD* ligeramente inferiores a 2,0, mostrando una mediocre calidad predictiva. Para una colección de muestras húmedas de henolaje de hierba Shenk y Westerhaus (1993) obtuvieron una satisfactoria predicción NIRS del contenido en PB, mientras que la predicción de FAD fue de mala calidad, con valores de *RPD* en validación cruzada de 4,7 y 1,3 para las ecuaciones de predicción de PB y FAD, respectivamente. Coincidiendo con los resultados del presente trabajo, para una colección de 109 henos de alfalfa de la zona mediterránea, Andueza et al. (2001) reportan una excelente capacidad predictiva de las ecuaciones NIRS para estimar los contenidos en PB y FND, con valores de  $R^2$  superiores a 0,90, siendo menos precisa la estimación de cenizas (CZ), con valores de  $R^2$  próximos a 0,80. En este mismo trabajo, los citados autores indican que, para una población de 25 muestras de henos de alfalfa de tres cultivares diferentes procedentes de la zona de Aragón, que incluían distintos años, ciclos y estados fenológicos, en los que se determinó la digestibilidad *in vivo*, las calibraciones NIRS mostraron valores del coeficiente de determinación  $1 - VR$ , del error de predicción *SECV* y del estadístico *RER* en validación cruzada de, respectivamente, 0,71,  $\pm 1,65$  % y 7,5 para DMS y de 0,87,  $\pm 2,64$  % y 9,7 para DMO. Para una colección de 90 muestras de heno y henolaje de hierba de granjas de Uruguay, Cozzolino et al. (2006) reportan una buena calidad predictiva de las ecuaciones NIRS para estimar el contenido en CZ, PB y FND, con valores de  $R^2$  superiores a 0,90 y de 3,0; 3,0 y 2,0; respectivamente, mientras que la ecuación para la predicción de FAD con un valor de  $R^2$  de 0,75 y de *RPD* de 1,5 fue menos precisa, indicando que el poder predictivo de NIRS decrece con la complejidad del parámetro analizado, lo cual no parece corresponderse con el mejor resultado obtenido en la estimación de FND, apuntando a un mayor error en la determinación de la FAD, en contra de lo que es habitual.

En un experimento realizado para evaluar la utilidad de la técnica NIRS para predecir la composición química y digestibilidad *in vivo* de forrajes de la región occidental de Canadá, Redshaw et al. (1986) desarrollaron ecuaciones NIRS sobre una colección de 82 muestras de henos de distintas especies herbáceas que permitieron estimar los contenidos en PB y FND con buena precisión, con valores en validación externa de  $r^2 > 0,90$  y de *RPD* de 4,0 para PB y de 2,8 para FND, siendo de inferior calidad la predicción de FAD ( $r^2 = 0,71$  y *RPD* = 1,7), mientras que la estimación mediante NIRS del valor de DMS *in vivo* de la colección, medida con ganado vacuno y ovino fue poco precisa, con valores de  $r^2$  de 0,68 y 0,47, *RPD* de 1,7 y 0,7 y error de predicción de  $\pm 2,4$  % y  $\pm 4,4$  % para los valores de referencia de digestibilidad determinados con ganado vacuno y ovino, respectivamente. Flinn y Heazlewood (2000) y Flinn et al. (2000) desarrollaron ecuaciones NIRS para la predicción de la composición química y digestibilidad de henos representativos de diversos forrajes de Australia, reportando valores de  $R^2$  y *RSD* (Error estándar residual) de, respectivamente, 0,54 y  $\pm 3,41$  % y de 0,63 y  $\pm 3,04$  % para las ecuaciones de predicción basadas en FAD y FND, respectivamente, siendo más exacta y precisa una ecuación NIRS que obtuvo valores de  $R^2 = 0,70$  y *SECV* =  $\pm 2,76$  %.

## Conclusiones

La tecnología NIRS mostró una capacidad predictiva de la DMO de henos de hierba superior a las ecuaciones empíricas basadas en parámetros químicos. Las ecuaciones NIRS obtenidas en el presente trabajo para la predicción de la composición química y el valor de DMO de henos de hierba son de utilidad para ser aplicadas en el análisis de muestras procedentes de explotaciones lecheras. Sin embargo la colección debe ser ampliada con nuevas mues-

tras para aumentar su variabilidad, en particular con muestras de henos de mayor calidad nutricional, procedentes de rebrotes foliáceos y muestras de henos de especies leguminosas y mezclas de estas especies con gramíneas. La colección ampliada deberá ser objeto de validación externa con muestras independientes para verificar su robustez.

## Agradecimientos

Trabajo financiado por el proyecto FEADER 2013/22 de la Xunta de Galicia.

## Referencias bibliográficas

- Abe A (1984). Assessment of the quality of forage from its chemical composition and application to feeding program. Tropical agriculture research series: Proceedings of a Symposium on tropical agriculture researches. Japan International Research Center for Agricultural Sciences 18: 133-150.
- Aerts JV, De Brabander DL, Cottyn BG, Buysse FX (1977). Comparison of laboratory methods for predicting the organic matter digestibility of forages. *Animal Feed Science and Technology* 2: 337-349. [https://doi.org/10.1016/0377-8401\(77\)90006-2](https://doi.org/10.1016/0377-8401(77)90006-2).
- Alexander RH, McGowan M (1966). The routine determination of *in vitro* digestibility of organic matter in forages. *Grass and Forage Science* 21: 140-147. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2494.1966.tb00462.x>.
- Andueza D, Muñoz F, Garrido A (2001). The prediction of the nutritive value of Mediterranean alfalfa forage by NIRS. *Options Méditerranéennes: Série A. Séminaires Méditerranéens* 45: 199-203.
- Aufrère J, Guérin H (1996). Critical review of chemical and enzymatic methods for the estimation of nutritive value in roughages. *Annales de Zootechnie* 45: 21-38.

- Barnes RJ, Dhanoa MS, Lister SJ (1989). Standard normal variate transformation and de-trending of near infrared diffuse reflectance spectra. *Applied Spectroscopy* 43: 772-777. <https://doi.org/10.1366%2F0003702894202201>.
- Bastianelli D, Bonnal L, Barre P, Nabeneza S, Salgado P, Andueza B (2018). La spectrométrie dans le proche infrarouge pour la caractérisation des ressources alimentaires. *Ressources alimentaires pour les animaux d'élevage* 31(3): 237-254. <https://dx.doi.org/10.20870/productions-animales.2018.31.2.2330>.
- Carro MD, López S, González JS, Ovejero FJ (1994). Comparison of laboratory methods for predicting digestibility of hay in sheep. *Small Ruminant Research* 14: 9-17. [https://doi.org/10.1016/0921-4488\(94\)90003-5](https://doi.org/10.1016/0921-4488(94)90003-5).
- Cherney DJR (2000). Characterization of forages by chemical analysis. En: *Forage evaluation in ruminant nutrition* (Eds. DJ Givens, E Owen, RFE Axford, HM Omed), pp 281-300. CAB International, Wallingford, Reino Unido. <http://dx.doi.org/10.1079/9780851993447.0281>.
- Corson DC, Waghorn GC, Ulyatt MJ, Lee J (1999). NIRS: Forage analysis and livestock feeding. *Proceedings of the New Zealand Grassland Association* 61: 127-132. <https://doi.org/10.33584/jnzg.1999.61.2340>.
- Cozzolino D, Fernández EG, Restaino EA, La Manna A (2006). Determinación de la composición química de heno mediante la espectrofotometría en el infrarrojo cercano (NIRS). *Revista Argentina de Producción Animal* 26: 203-209.
- De Boever JL, Cottyn BG, De Brabander DL, Vanacker JM, Boucqué ChV (1999). Equations to predict digestibility and energy value of grass silages, maize silages, grass hays, compound feeds and raw materials for cattle. *Nutrition Abstracts and Reviews, Series B: Livestock Feeds and Feeding* 69(11): 835-850.
- FEDNA, *Tablas de valor nutritivo de Forrajes y Subproductos fibrosos húmedos* (2016). Calsamiglia et al. (Eds.), Fundación para el Desarrollo de la Nutrición Animal. Madrid, España. 93 pp.
- Flinn PC, Heazlewood PG (2000). A uniform objective system for quality description of Australian fodder products. No. 00/134. Project No. DAV-104. Rural Industries Research and Development Corporation. Canberra, Australia.
- Flinn PC, Heazlewood PG, Dalton SL (2000). Recent developments in improving the prediction of digestibility of feed grains. En: *Near Infrared Spectroscopy: Proceedings of the 9<sup>th</sup> International Conference on Near-Infrared Spectroscopy*. NIR Publications, Chichester, Reino Unido, pp. 745-748.
- Flores-Calvete G, Martínez-Fernández A, Doltra J, García-Rodríguez A, Eguinoa-Ancha P (2017). Encuesta sobre estructura y sistemas de alimentación de las explotaciones lecheras de Galicia, Cornisa Cantábrica y Navarra. Informe del Proyecto INIA-RTA2012-00065-C05.
- Goering HK, Van Soest PJ (1970). Forage fiber analysis (apparatus, reagents, procedures and some applications). *Agriculture Handbook No. 379*, USDA, Washington, EEUU. 20 pp.
- INRA (2010). Alimentation des bovins, ovins et caprins. Besoins des animaux – valeurs des aliments. *Tables INRA 2007*. Institut National de la Recherche Agronomique, Éditions Quae, Versailles, Francia, 311 pp.
- Jarrige R (1980). Chemical methods for predicting the energy and protein values of forages. *Annales de Zootechnie, INRA/EDP Sciences* 29: 299-323.
- Jones GM, Wade NS, Baker JP, Ranck EM (1987). Use of Near Infrared Reflectance Spectroscopy in forage testing. *Journal of Dairy Science* 70: 1086-1091.
- Khazaal K, Dentinho MT, Ribeiro JM, Ørskov ER (1995). Prediction of apparent digestibility and voluntary intake of hays fed to sheep: comparison between using fibre components, *in vitro* digestibility or characteristics of gas production or nylon bag degradation. *Animal Production* 61: 527-538. <https://doi.org/10.1017/S1357729800014107>.
- López S, Dijkstra J, France J (2000). Prediction of energy supply in ruminants, with emphasis on forages. En: *Forage Evaluation in Ruminant Nutrition* (Ed. Givens DJ, Owen E, Axford RFE), pp 63-94. CAB International, Wallingford, Reino Unido.

- Lundberg KM, Hoffman PC, Bauman LM, Berzaghi P (2004). Prediction of forage energy content by Near Infrared Reflectance Spectroscopy and Summative Equations. *The Professional Animal Scientist* 20 (3): 262-269. [https://doi.org/10.15232/S1080-7446\(15\)31309-7](https://doi.org/10.15232/S1080-7446(15)31309-7).
- Mark H, Workman J (2003). *Statistics in Spectroscopy*. Elsevier, Academic Press, Amsterdam. 342 pp.
- Martens H, Næs T (1987). Multivariate calibration by data compression. En: *Near-infrared technology in the agricultural and food industries* (Eds. Williams y Norris), pp. 57-88. American Association of Cereal Chemists, Inc. St. Paul, Minnesota, EEUU.
- Massart DL, Vandeginste BGM, Buydens LMC, De Jong S, Lewi PJ, Smeyers-Verbeke J (1997). *Handbook of Chemometrics and Qualimetrics, Part A. Data Handling in Science and Technology, volume 20, part A*. Elsevier: Amsterdam. 886 pp.
- Moss AR y Givens DI (1990). Chemical composition and *in vitro* digestion to predict digestibility of field-cured and barn-cured grass hays. *Animal Feed Science and Technology* 31: 125-138. [https://doi.org/10.1016/0377-8401\(90\)90119-5](https://doi.org/10.1016/0377-8401(90)90119-5).
- Redshaw ES, Mathison GW, Milligan LP, Weisenburger RD (1986). Near infrared reflectance spectroscopy for predicting forage composition and voluntary consumption and digestibility in cattle and sheep. *Canadian Journal of Animal Science* 66: 103-115. <https://doi.org/10.4141/cjas86-012>.
- Ribeiro JMCR, Moreira OMSC (1998). Comments on feed evaluation methods used in the project. En: *Exploitation of Mediterranean roughage and by-products* (Ed. Antongiovanni), p. 79-91. *Options Méditerranéennes: Série B. Etudes et Recherches; n° 17*. CIHEAM, Zaragoza, España.
- Rohweder DA, Barnes RF, Jorgensen N (1978). Proposed hay grading standards based on laboratory analyses for evaluating quality. *Journal of Animal Science* 47(3): 747-759. <https://doi.org/10.2527/jas1978.473747x>.
- Saeyes W, Mouazen AM, Ramon H (2005). Potential for onsite and online analysis of pig manure using Visible and Near Infrared Reflectance Spectroscopy. *Biosystems Engineering* 91(4): 393-402. <https://doi.org/10.1016/j.biosystemeng.2005.05.001>.
- Shenk JS, Westerhaus MO (1991). Population definition, sample selection, and calibration procedures for near infrared reflectance spectroscopy. *Crop Science* 31: 469-474. <https://doi.org/10.2135/cropsci1991.0011183X003100020049x>.
- Shenk JS, Westerhaus MO (1993). Near Infrared Reflectance Analysis with single and multiproduct calibrations. *Crop Science* 33(3): 582-584. <https://doi.org/10.2135/cropsci1993.0011183X003300030032x>.
- Shenk JS, Westerhaus MO (1995). The application of near infrared reflectance Spectroscopy (NIRS) to forage analysis. En: *Forage Quality, Evaluation, and Utilization* (Ed. Fahey GC), pp. 406-449. A.S.A., C.S.S.A., S.S.S.A., Madison, EEUU.
- Shenk JS, Workman JJ, Westerhaus MO (2001). Application of NIR spectroscopy to agricultural products. En: *Handbook of Near Infrared Analysis* (Eds. Burns DA y Ciurczak EW), pp. 419-474. Marcel Dekker, New York, EEUU.
- Tilley JM, Terry RA (1963). A two-stage technique for the *in vitro* digestion of forage crops. *Grass and Forage Science* 18: 104-111. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2494.1963.tb00335.x>.
- Van der Koelen CJ, Van Es AJH (1973). A comparison of some laboratory techniques for the estimation of digestibility of the organic matter in forage samples. *Netherlands Journal of Agricultural Science* 21: 199-205. <https://doi.org/10.18174/njas.v21i3.17247>.
- Van Soest PJ, Robertson JB, Lewis BA (1991). Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science* 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).
- Van Soest PJ (1994). *Nutritional Ecology of the Ruminant*, 2nd Ed. Cornell University Press, Ithaca.
- Williams PC, Sobering DC (1996). How do we do it: a brief summary of the methods we use in developing near infrared calibrations. En: *Near In-*

- frared Spectroscopy: The Future Waves (Eds. Davies AMC y Williams P), pp. 185-188. NIR Publications, Chichester, Reino Unido.
- Williams PC (2001). Implementation of Near-Infrared technology. En: Near-infrared technology in the agricultural and food industries (Eds. Williams P y Norris K), pp 145-169. American Association of Cereal Chemists, Inc. St. Paul, Minnesota, EEUU.
- Windham WR, Mertens DR, Barton II FE (1989). Protocol for NIRS calibration: sample selection and equation development and validation. En: Near Infrared Reflectance Spectroscopy (NIRS): Analysis of forage quality (Eds. Marten GC, Shenk JS, Barton FE), pp. 96-103. USDA Hand Book n° 643, Washington, D.C., EEUU.
- (Aceptado para publicación el 15 de septiembre de 2021)