USC
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

ESCOLA DE DOUTORAMENTO INTERNACIONAL DA USC

Sonia
Pereira Crespo

Tese de doutoramento

Aplicacións analíticas avanzadas para a predición do valor nutricional das forraxes máis utilizadas nas explotacións leiteiras de Galicia

Lugo, 2020

PD en Enxeñaría para o Desenvolvemento Rural e Civil

TESE DE DOUTORAMENTO

Aplicacións analíticas avanzadas para a predición do valor nutricional das forraxes máis utilizadas nas explotacións leiteiras de Galicia

Sonia Pereira Crespo

ESCOLA DE DOUTORAMENTO INTERNACIONAL DA UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

PROGRAMA DE DOUTORAMENTO EN ENXEÑARÍA PARA O DESENVOLVEMENTO RURAL E CIVIL

LUGO

2020

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

DECLARACIÓN DO AUTOR/A DA TESE

D./Dna. **Sonia Pereira Crespo**

Título da tese: **Aplicacións analíticas avanzadas para a predición do valor nutricional das forraxes máis utilizadas nas explotacións leiteiras de Galicia**

Presento a miña tese, seguindo o procedemento axeitado ao Regulamento, e declaro que:

1) A tese abarca os resultados da elaboración do meu traballo.
2) De ser o caso, na tese faise referencia ás colaboracións que tivo este traballo.
3) Confirmo que a tese non incorre en ningún tipo de plaxio doutros autores nin de traballos presentados por min para a obtención doutros títulos.

E comprométome a presentar o Compromiso Documental de Supervisión no caso de que o orixinal non estea na Escola.

En **Lugo**, **07 de Decembro de 2020**.

Sinatura electrónica

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

AUTORIZACIÓN DO DIRECTOR/TITOR DA TESE

D./Dna. **Gonzalo Flores Calvete**

En condición de: **Director/a**

Título da tese: **Aplicacións analíticas avanzadas para a predición do valor nutricional das forraxes máis utilizadas nas explotacións leiteiras de Galicia**

INFORMA:

Que a presente tese, correspóndese co traballo realizado por D/Dna Sonia Pereira Crespo, baixo a miña dirección/titorización, e autorizo a súa presentación, considerando que reúne os requisitos esixidos no Regulamento de Estudos de Doutoramento da USC, e que como director/titor desta non incorre nas causas de abstención establecidas na Lei 40/2015.

En **Lugo**, **07 de Decembro de 2020**

Sinatura electrónica

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

AUTORIZACIÓN DO DIRECTOR/TITOR DA TESE

D./Dna. **Elena Fernández Rodríguez**

En condición de: **Titor/a**

Título da tese: **Aplicacións analíticas avanzadas para a predición do valor nutricional das forraxes máis utilizadas nas explotacións leiteiras de Galicia**

INFORMA:

Que a presente tese, correspóndese co traballo realizado por D/Dna Sonia Pereira Crespo, baixo a miña dirección/titorización, e autorizo a súa presentación, considerando que reúne os requisitos esixidos no Regulamento de Estudos de Doutoramento da USC, e que como director/titor desta non incorre nas causas de abstención establecidas na Lei 40/2015.

En **Lugo**, **07 de Decembro de 2020**

Sinatura electrónica

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

A presente Tese de Doutoramento realizouse no Centro de Investigacións Agrarias de Mabegondo (CIAM), dependente da Axencia Galega de Calidade Alimentaria (AGACAL) da Xunta de Galicia, grazas á concesión dunha axuda predoutoral de Formación de Persoal Investigador financiada polo Instituto Nacional de Investigación Agraria y Tecnología Agraria (INIA) e vinculada ao proxecto RTA2005-00217-00-00.

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

In Memoriam

Ao meu pai, Manuel Pereira

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

O que non lle dá de comer a unha vaca non ten dereito a muxila

[Castelao, 1944]

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

Agradecementos

Concluída esta Tese, quero expresar o meu profundo agradecemento a todas as persoas e institucións que fixeron posíbel levar a cabo este traballo.

Agradezo ao CIAM por facilitarme todos os medios necesarios para realizar a miña Tese e a todas as compañeiras e compañeiros que colaboraron directa ou indirectamente na consecución deste traballo. Da mesma maneira, agradezo ao LIGAL e ao LAFIGA todo o apoio recibido.

Quero expresar un especial agradecemento á equipa de investigación da que estou infinitamente orgullosa de formar parte: Laura González, Marcos Veiga, Adrián Botana, César Resch, Thierry Dagnac e Valentín García, son uns compañeiros excepcionais. Ao igual que o Director desta Tese, Gonzalo Flores, que para min sen dúbida é o mellor líder posíbel, unha persoa inspiradora que é exemplo de loita e superación, sen o seu apoio e gran traballo a presente Tese non chegaría ao seu punto final.

Quero agradecer tamén dun xeito especial a Bruno Fernández, Juan Valladares, Teresa Moreno, Juan Castro e Antonio Arráez, por toda a axuda recibida.

Tamén desexo expresar un especial agradecemento a todos os estudantes da Universidad Autónoma del Estado de México que estiveron de estadía no CIAM colaborando neste traballo, especialmente a Dalia.

Chegar até aquí foi unha longa viaxe, acompañada por xente formidábel, moitas grazas ás miñas amizades que tanto me coidan e apoian, moitas grazas Patri, Sandra, Pili e Berto.

Por último, agradezo aos meus pais Manuel e Celia, polo infinito apoio e os grandes esforzos que fixeron por min. Tamén un gran agradecemento ao meu irmán, Javi, un apoio importante na miña vida desde o día que nacín. Unha lembranza especial a miña tía Elvira e a miña madriña Maricarme, das que sempre recibín gran apoio e foron exemplo de brava valentía e gran corazón.

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

Resumo

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

RESUMO

O uso de forraxes de calidade e a mellora da eficiencia da súa utilización no racionamento das vacas de leite é unha das claves da viabilidade económica e ambiental do sector produtor leiteiro galego, inmerso nun mercado aberto, competitivo e cada vez máis esixente. Para elo, cómpre dispoñer dun sistema avanzado de valoración nutricional dos alimentos que informe con precisión do valor enerxético e nitroxenado das forraxes dispoñíbeis nas explotacións.

No presente traballo se perseguiron cinco obxectivos: 1) Describir as características de composición química e dixestibilidade da materia orgánica (DMO) dos principais grupos de forraxes frescas e de forraxes conservadas como fenos e ensilaxes utilizadas nas explotacións leiteiras de Galiza; 2) desenvolver ecuacións NIRS para a estimación da composición química e a DMO das forraxes e de mesturas completas (*unifeed*) comunmente utilizadas para a alimentación das vacas de leite; 3) avaliar a capacidade de NIRS para estimar os parámetros de degradabilidade ruminal de ensilaxes de herba e de millo; 4) obter ecuacións de regresión baseadas na composición química das mostras para estimar os valores de DMO dos distintos grupos de forraxes e das mesturas *unifeed* así como da degradabilidade ruminal das ensilaxes de herba e de millo comparando a súa capacidade preditiva coa obtida mediante a técnica NIRS e 5) construír e validar ecuacións NIRS para predicir os parámetros de calidade fermentativa de ensilaxes de herba e ensilaxes de millo.

As coleccións de forraxes e mesturas *unifeed* utilizados nesta tese ascenderon a un total de 4645 mostras, das cales 2181 eran forraxes frescas, 1262 ensilaxes de herba, 996 de ensilaxes de millo, 125 de mostras *unifeed* e 81 de fenos de pradeira. As mostras, procedentes de granxas leiteiras galegas e das fincas experimentais do Centro de Investigacións Agrarias de Mabegondo (CIAM) foron recollidas ao longo de diversos anos e pretenden reflectir, na maior medida posíbel, a variabilidade existente na práctica. Os valores de referencia da DMO se corresponden con valores determinados *in vivo* con ovinos a nível de mantemento (n=368 mostras) ou de dixestibilidade *in vitro* con líquido ruminal corrixida por estándares de dixestibilidade *in vivo* coñecida

(n=1476 mostras) e os de degradabilidade ruminal *in situ* (n=132 mostras) foron determinados con gando vacún, todos eles realizados en diferentes ensaios e anos nas instalacións do CIAM, nos que se gardaron rigorosamente as normas de benestar en animais de experimentación. A composición química das forraxes determinouse por métodos de referencia nos laboratorios do CIAM e a calidade fermentativa das ensilaxes (n=1043 mostras) no Laboratorio Agrario e Fitopatolóxico de Galicia (LAFIGA).

Os resultados obtidos no presente traballo se comparan favorabelmente cos reportados por diferentes autores na bibliografía internacional, tanto na estimación da composición química e valor de DMO como de parámetros de degradabilidade ruminal de forraxes frescas e conservadas e da calidade fermentativa de ensilaxes, mostrando a potencialidade de NIRS como técnica non destrutiva para a estimación rápida e precisa do valor nutricional de alimentos para o gando vacún, sustentada no amplo número de mostras representativas das características dos principais tipos de forraxes frescas e conservadas das explotacións leiteiras galegas.

As ecuacións NIRS permitiron obter, en xeral, unha satisfactoria predición da composición química dos diferentes grupos de mostras analizadas, sendo máis precisas, en xeral, as estimacións realizadas para forraxes frescas, fenos e mesturas *unifeed*, comparadas coas ensilaxes. Os parámetros mellor preditos foron proteína bruta (PB), fibra neutro deterxente (FND), carbohidratos non estruturais totais (CNET) e solúbeis en auga (CSA), amidón (ALM) e extracto etéreo (EE), con valores medios de RPD (relación entre a desviación estándar do conxunto de mostras e o erro estándar de predición en validación externa ou cruzada) superiores a 5,0, seguidos do contido en fibra ácido deterxente (FAD) e de materia orgánica (MO) con valores medios de RPD de 4,0 e 2,9, respectivamente, sendo posíbel realizar en tódolos casos predicións cuantitativas de entre excelente e aceptábel calidade. As ecuacións para a estimación de fibra bruta e de lignina, realizadas unicamente sobre mostras de xirasol fresco, de ensilaxes de herba e de ensilaxes de millo, non foron de utilidade preditiva.

Os modelos de predición NIRS para a estimación do valor de DMO permitiron unha predición cuantitativa entre boa e aceptábel en tódalas forraxes frescas, fenos e mesturas *unifeed*, así como nas ensilaxes de herba, sendo considerada como moderada para as ensilaxes de millo, todas elas aplicábeis á estimación cuantitativa de mostras externas, salvo no caso dos fenos onde só se realizou a validación cruzada das ecuacións. Os valores do erro de predición de DMO se mantiveron por debaixo de 1,5 veces o erro do

método de referencia, indicando un excelente axuste. A calidade preditiva das ecuacións NIRS para a estimación da DMO de forraxes frescas e fenos foi máis alta, comparada coa das ensilaxes, con valores medios de *RPD* de 3,3 para as forraxes frescas e fenos, de 2,6 para ensilaxes de herba e de 1,9 para ensilaxes de millo. O uso das ecuacións NIRS na estimación do valor de DMO dos distintos grupos de produtos estudados permitiu reducir o erro medio de predición (SEP) dos mellores modelos empíricos a practicamente a metade, pasando de ±4,5% a ±2,4%, mentres que a varianza explicada se incrementaba desde o 51% ao 79% cando se aplicaban as ecuacións a grupos independentes de mostras da mesma clase.

A ecuación NIRS para a predición do valor da dixestibilidade *in vivo* da parede celular (DFND) de ensilaxes de millo mostrou un axuste mediocre en validación externa, cun valor de RPD de 1,6 permitindo unicamente unha clasificación cualitativa en rangos, se ben o valor do erro medio de predición (SEP= ±4,8%) foi moi parecido ao erro do método de referencia obtido nas avaliacións *in vivo* para este parámetro (±4,4%).

As ecuacións empíricas mostraron unha baixa aptitude preditiva dos parámetros de degradabilidade ruminal *in situ*, en particular para as ensilaxes de millo. A mellora da precisión e exactitude de NIRS na estimación da degradabilidade efectiva da MS, FND e PB das ensilaxes, respecto das ecuacións empíricas, ponse de manifesto polo incremento de entre o 50 e o 53% da varianza media explicada en validación externa e pola redución do erro de predición entre un 43% e un 36% para as ensilaxes de herba e de millo, respectivamente. As ecuacións NIRS para a predición directa do valor da degradabilidade efectiva ($\boldsymbol{DT}$) da MS, FND, PB e ALM por NIRS foron máis exactas e precisas que as ecuacións que estimaban os parámetros que definen a cinética de degradación ruminal dos respectivos constituíntes. Entre estes, a fracción inmediatamente solúbel ($\boldsymbol{a}$) foi o parámetro mellor predito, sendo de menor calidade as ecuacións NIRS para a estimación da fracción insolúbel pero potencialmente degradábel ($\boldsymbol{b}$) e, particularmente, a correspondente á velocidade de degradación ruminal ($\boldsymbol{c}$). En base aos valores da relación RPD en validación cruzada, as ecuacións NIRS obtidas para as ensilaxes de herba permitirían realizar unha predición cuantitativa entre excelente e aceptábel de tódolos parámetros de degradabilidade da MS, FND e PB, salvo para velocidade de degradación ruminal da MS e da PB, que só permitiría unha predición cuantitativa en rangos, non sendo posíbel estimar por NIRS o valor de $\boldsymbol{c}_{\mathrm{FND}}$. Para ensilaxes de millo a fiabilidade das ecuacións foi claramente inferior, permitindo

unicamente a predición cualitativa en rangos dos valores de degradabilidade teórica $\boldsymbol{DT}_{MS}$, $\boldsymbol{DT}_{PB}$ e $\boldsymbol{DT}_{ALM}$ e das fraccións solúbel e potencialmente degradábel de MS e PB, non sendo posíbel estimar por NIRS os valores da velocidade de degradación $\boldsymbol{c}_{MS}$, $\boldsymbol{c}_{PB}$ e $\boldsymbol{c}_{ALM}$ nin ningún outro parámetro de degradación da parede celular, incluída a degradabilidade efectiva $\boldsymbol{DT}_{FND}$.

As ecuacións NIRS construídas por separado para as coleccións de mostras secas e moídas de ensilaxes de herba e de millo foron máis exactas e precisas que as ecuacións xerais realizadas sobre o total de mostras, e mostraron a capacidade de realizar unha satisfactoria predición cuantitativa do valor de pH e dos contidos en láctico, acético, nitróxeno (N) solúbel e N amoniacal en ambos tipos de ensilaxes, mentres que a predición do contido en etanol nas ensilaxes de millo só permitiría unha clasificación en rangos para este parámetro. En xeral, foron mellor preditos os produtos de fermentación con menores perdas de volatilidade durante o secado en estufa (láctico vs. etanol e acético).

Se proba por tanto que as calibracións NIRS desenvolvidas no presente traballo son unha ferramenta útil para a avaliación nutricional rápida e precisa das principais forraxes producidas na explotacións leiteiras de Galiza. A dispoñibilidade destas ecuacións facilita a toma de decisións estratéxicas en relación ao manexo xeral da base forraxeira das granxas, ás necesidades de suplementación e á elaboración de racións económicas, favorecendo a optimización do uso de forraxes na alimentación de gando vacún de leite e colaborando ao mesmo tempo á minimización do impacto ambiental da actividade gandeira.

As calibracións NIRS están actualmente operativas para o seu uso en rutina mediante a realización da oportuna transferencia de información entre os instrumentos NIRS do CIAM e LIGAL, os cales están estandarizados para poder compartir información, o que produciu unha substancial mellora da calidade da oferta analítica dos diferentes tipos de mostras ao servizo das ganderías galegas por parte do LIGAL. Ao mesmo tempo están sendo utilizadas con propósito de apoio aos proxectos de investigación e de mellora xenética de plantas forraxeiras realizados no CIAM, debendo ser obxecto de actualización e mellora permanente para representar nas coleccións de calibración, na maior medida posíbel, a variabilidade na composición das mostras no ámbito de aplicación das ecuacións de predición.

RESUMEN

El uso de forrajes de calidad y la mejora de la eficiencia de su utilización en el racionamiento de las vacas de leche es una de las claves de la viabilidad económica y ambiental del sector lechero gallego, inmerso en un mercado abierto, competitivo y cada vez más exigente. Para ello, se requiere disponer de un sistema avanzado de valoración nutricional de los alimentos que informe con precisión do valor energético y nitrogenado de los forrajes disponibles en las explotaciones.

En el presente trabajo se persiguieron cinco objetivos: 1) Describir las características de composición química e digestibilidad de la materia orgánica (DMO) de los principales grupos de forrajes frescos y de forrajes conservados como henos y ensilajes utilizados en las explotaciones lecheras de Galicia; 2) desenvolver ecuaciones NIRS para la estimación de la composición química y la DMO de los forrajes y de las mezclas completas (*unifeed*) comúnmente utilizadas para la alimentación de las vacas de leche; 3) evaluar la capacidad de NIRS para estimar los parámetros de degradabilidad ruminal de ensilajes de hierba y de maíz; 4) obtener ecuaciones de regresión basadas en la composición química de las muestras para estimar los valores de DMO de los distintos grupos de forrajes y de las mezclas *unifeed* así como de la degradabilidad ruminal de los ensilajes de hierba y de maíz comparando su capacidad predictiva con la obtenida mediante la técnica NIRS y 5) construir y validar ecuaciones NIRS para predecir los parámetros de calidad fermentativa de ensilajes de hierba y ensilajes de maíz.

Las colecciones de forrajes y mezclas *unifeed* utilizadas en la presente tesis ascendieron a un total de 4645 muestras, de las cuales 2181 eran forrajes frescos, 1262 ensilajes de hierba de pradera, 996 de ensilajes de maíz, 125 de muestras *unifeed* y 81 de henos de pradera. Las muestras, procedentes de granjas lecheras gallegas y de fincas experimentales del Centro de Investigacións Agrarias de Mabegondo (CIAM) fueron recogidas a lo largo de diversos años y pretenden reflejar, en la mayor medida posible, la variabilidad existente en la práctica. Los valores de referencia da DMO se corresponden con valores determinados *in vivo* con ovinos a nivel de mantenimiento (n=368 muestras) o de digestibilidad *in vitro* con líquido ruminal corregida por

estándares de digestibilidad *in vivo* conocida (n=1476 muestras) y los de degradabilidad ruminal *in situ* (n=132 muestras) fueron determinados con ganado vacuno, todos ellos realizados en distintos ensayos y diferentes años en las instalaciones del CIAM, en los que se guardaron rigurosamente las normas de bienestar en animales de experimentación. La composición química de los forrajes se determinó por métodos de referencia en los laboratorios del CIAM y la calidad fermentativa de los ensilajes (n=1043 muestras) en el Laboratorio Agrario e Fitopatolóxico de Galicia (LAFIGA).

Los resultados obtenidos en el presente trabajo se comparan favorablemente con los reportados por diferentes autores en la bibliografía internacional, tanto en la estimación de la composición química y valor de DMO como de los parámetros de degradabilidad ruminal y calidad fermentativa, mostrando la potencialidad de NIRS como técnica no destructiva para la estimación rápida y precisa del valor nutricional de alimentos para el ganado vacuno, sustentada en el amplio número de muestras representativas de las características de los principales tipos de forrajes frescos y conservados de las explotaciones lecheras gallegas.

Las ecuaciones NIRS permitieron obtener una satisfactoria predicción de la composición química de los diferentes grupos de muestras analizadas, siendo más precisas, en general, las estimaciones realizadas para forrajes frescos, henos y mezclas *unifeed*, comparadas con los ensilajes. Los parámetros mejor predichos fueron proteína bruta (PB), fibra neutro detergente (FND), carbohidratos no estructurales totales (CNET) y solubles en agua (CSA), almidón (ALM) y extracto etéreo (EE), con valores medios de RPD (relación entre la desviación estándar del conjunto de muestras y el error estándar de predicción en validación cruzada o externa) superiores a 5,0, seguidos del contenido en fibra ácido detergente (FAD) y de materia orgánica (MO) con valores medios de RPD de 4,0 y 2,9, respectivamente, siendo posible realizar en todos los casos predicciones cuantitativas de calidad entre excelente y aceptable. Las ecuaciones para la estimación de fibra bruta y de lignina, realizadas únicamente sobre muestras de girasol fresco, de ensilajes de hierba e de ensilajes de maíz, no fueron de utilidad predictiva.

Los modelos de predicción NIRS para la estimación del valor de DMO permitieron una predicción cuantitativa que se califica entre buena y aceptable en todos los forrajes frescos, henos y mezclas *unifeed*, así como en los ensilajes de hierba, siendo considerada como moderada para los ensilajes de maíz, siendo todas las ecuaciones NIRS aplicables a la estimación cuantitativa de muestras externas, salvo en el caso de

los henos donde solo se realizó la validación cruzada de las ecuaciones. Los valores del error de predicción de DMO se mantuvieron por debajo del valor de 1,5 veces el error del método de referencia, indicando un excelente ajuste. La calidad predictiva de las ecuaciones NIRS para la estimación de la DMO de forrajes frescos y henos fue más alta, comparada con la de los ensilajes, con valores medios de RPD de 3,3 para los forrajes frescos y henos, de 2,6 para ensilajes de hierba y de 1,9 para ensilajes de maíz. El uso de las ecuaciones NIRS en la estimación del valor de DMO de los distintos grupos de productos estudiados permitió reducir el error medio de predicción (SEP) de los mejores modelos empíricos a practicamente la mitad, pasando de ±4,5% a ±2,4%, mientras que la varianza explicada se incrementaba desde el 51% al 79% cando se aplicaban las ecuaciones a grupos independientes de muestras de la misma clase.

La ecuación NIRS para la predicción del valor de la digestibilidad *in vivo* de la pared celular (DFND) de ensilajes de maíz mostró un ajuste mediocre en validación externa, con un valor de RPD de 1,6 permitindo unicamente unha clasificación cualitativa en rangos, si bien el valor del error medio de predicción (SEP= ±4,8%) fue muy parecido al error del método de referencia obtenido en las evaluaciones *in vivo* para este parámetro (±4,4%).

Las ecuaciones empíricas mostraron una baja aptitud predictiva de los parámetros de degradabilidad ruminal *in situ*, en particular para los ensilajes de maíz. La mejora de la precisión y exactitud de NIRS en la estimación de la degradabilidad efectiva de la MS, FND e PB de los ensilajes, respecto de las ecuaciones empíricas, se pone de manifiesto por el incremento medio de entre el 50 y el 53% del porcentaje de varianza explicada en validación externa y por la reducción del error de predicción entre un 43% y un 36% para los ensilajes de hierba y de maíz, respectivamente. Las ecuaciones NIRS para la predicción directa del valor de la degradabilidad efectiva ($\boldsymbol{DT}$) de la MS, FND, PB y ALM mediante NIRS fueron más exactas y precisas que las ecuaciones que estimaban los parámetros que definen la cinética de degradación ruminal. Entre estos, la fracción inmediatamente soluble ($\boldsymbol{a}$) fue el parámetro mejor predicho, siendo de menor calidad las ecuaciones NIRS para la estimación de la fracción insoluble pero potencialmente degradable ($\boldsymbol{b}$) y, particularmente, la correspondiente a la velocidad de degradación ruminal ($\boldsymbol{c}$). En base a los valores de la relación RPD en validación cruzada, las ecuaciones NIRS obtenidas para los ensilajes de hierba permitirían realizar una predicción cuantitativa entre excelente y aceptable de todos los parámetros de

degradabilidad de la MS, FND y PB, salvo para la velocidad de degradación ruminal de la MS y de la PB, que sólo permitiría una predicción cuantitativa en rangos, no siendo posible estimar por NIRS el valor de $\boldsymbol{c}_{FND}$. Para ensilajes de maíz la fiabilidad de las ecuaciones fue claramente inferior, permitiendo únicamente la predicción cualitativa en rangos de los valores de degradabilidad teórica $\boldsymbol{DT}_{MS}$, $\boldsymbol{DT}_{PB}$, $\boldsymbol{DT}_{ALM}$ y de las fracciones soluble y potencialmente degradable de MS y PB, no siendo posible estimar por NIRS los valores de la velocidad de degradación $\boldsymbol{c}_{MS}$, $\boldsymbol{c}_{PB}$ y $\boldsymbol{c}_{ALM}$ ni ningún otro parámetro de degradación de la pared celular, incluida la degradabilidad efectiva $\boldsymbol{DT}_{FND}$.

Las ecuaciones NIRS construidas por separado para las colecciones de muestras secas y molidas de ensilajes de hierba y de maíz fueron más exactas y precisas que las ecuaciones generales realizadas sobre el total de muestras, y mostraron la capacidad de realizar una satisfactoria predicción cuantitativa del valor de pH y de los contenidos en láctico, acético, nitrógeno (N) soluble y N amoniacal en ambos tipos de ensilajes, mientras que la predicción del contenido en etanol en los ensilajes de maíz sólo permitiría una clasificación en rangos para este parámetro. En general, fueron mejor predichos los productos de fermentación con menores pérdidas de volatilidad durante el secado en estufa (láctico vs. etanol y acético).

Se confirma por tanto que las calibraciones NIRS desarrolladas en el presente trabajo son una herramienta útil para la evaluación nutricional rápida y precisa de los principales forrajes producidos en las explotaciones lecheras de Galicia. La disponibilidad de estas ecuaciones facilita la toma de decisiones estratégicas en relación al manejo general de la base forrajera de las granjas, a las necesidades de suplementación con concentrados y a la elaboración de raciones económicas, favoreciendo la optimización del uso de forrajes en la alimentación del ganado vacuno de leche y colaborando al mismo tempo a la minimización del impacto ambiental de la actividad ganadera.

Las ecuaciones de calibración NIRS están actualmente operativas para su uso en rutina mediante la realización de la oportuna transferencia de información entre los instrumentos NIRS del CIAM y LIGAL, los cuales están estandarizados para poder compartir información, lo que produce una substancial mejora de la calidad de la oferta analítica de los diferentes tipos de muestras al servicio de las ganaderías gallegas por parte del LIGAL. Al mismo tiempo están siendo utilizadas con propósito de apoyo a los proyectos de investigación y de mejora genética de plantas forrajeras realizados en el

CIAM, debiendo ser objeto de actualización y mejora permanente para representar en las colecciones de calibración, en la mayor medida posible, la variabilidad en la composición de las muestras en el ámbito de aplicación de las ecuaciones NIRS de predicción.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

SUMMARY

The utilization of high-quality, home-produced forages and the improvement of the efficiency of its use in cows' feeding is one of the main keys for the Galician dairy production sector in order to maintaining its leading position and succeeding in increasingly demanding and competitive dairy markets. To achieve this goal, the availability of an advanced feed evaluation system that provides a fast, cheap and accurate assessment of forage quality for dairy farmers, technical advisers and researchers is highly desirable.

The present thesis aims to five objectives: 1) Characterize the chemical composition and organic matter digestibility (OMD) of the main groups of fresh and preserved forages commonly used in Galician dairy farms; 2) Develop near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) calibration models for estimating the chemical composition and OMD of fresh pastures and forage crops, herbage and maize silages, grass hays and total-mixed rations (TMR) that are usually fed to dairy cows in Galicia; 3) Evaluate the predictive ability of NIRS models to estimate the *in situ* ruminal degradability parameters of grass and maize silages; 4) Construct new and updated regression equations, based on the chemical composition, for the prediction of the OMD values of the aforementioned forages and TMR, and for estimating the *in situ* ruminal degradability of grass and maize silages, comparing the predictive ability of empirical vs. NIRS equations, and 5) Obtain NIRS calibration equations for the prediction of relevant fermentative parameters as a guide for the assessment of the conservation quality of herbage and maize silages.

A total of 4645 samples of forages and TMR were used in this work, of which 2181 were fresh forages, 1262 grass silages, 996 maize silages, 125 total-mixed rations and 81 hays. The collections of samples came from Galician dairy farms and from the experimental farms of the Centro de Investigacións Agrarias de Mabegondo (CIAM) and were collected along several years, attempting to represent the existing variability in practical dairy farms feeding systems. The reference values of OMD correspond to *in vivo* determinations using sheep at a maintenance feeding level (n=368 samples) or *in*

vitro results from laboratory incubation tests using rumen fluid from donor dairy cows, which were corrected with standards of known *in vivo* digestibility (n=1476 samples) and ruminal degradability values (n=132 samples) were determined by *in situ* trials using non-lactating cows. All the animal measures were performed in different experiments taking place during several years at the CIAM facilities, in strictly compliance with the Spanish and Galician experimental animal welfare regulations. The chemical composition of forages was determined by wet chemistry at the CIAM laboratories and the fermentative quality of silages (n=1043 samples) was performed by reference methods at the Laboratorio Agrario e Fitopatolóxico de Galicia (LAFIGA).

The results obtained in the present work compare favorably with those reported by other authors of the international bibliography who studied indirect methods for the estimation of chemical composition, OMD and ruminal degradability of ruminant feeds so as the silage fermentative quality, showing the potential of NIRS as a non-destructive, rapid and reliable tool for feed evaluation, based on a large number of representative samples of the main types of fresh and preserved forages and TMR from Galician dairy farms.

The NIRS equations showed a suitable prediction of chemical composition for the different groups of samples, being more precise, in general, the estimates for fresh forages, hay and TMR, in comparison with silages. The best predicted parameters were crude protein (CP), neutral detergent fiber (NDF), total non-structural carbohydrates (NSC), water soluble carbohydrates (WSC), starch (STA) and ether extract (EE), with mean values of RPD (ratio of performance deviation: ratio of the standard deviation of the original data to standard error of prediction in cross or external validation) higher than 5,0, followed by acid detergent fiber (ADF) and organic matter (OM) content with mean values of RPD of 4,0 and 2,9, respectively, allowing for quantitative predictions with a quality considered between excellent and acceptable in all cases. The NIRS equations for estimation of the crude fiber and lignin contents, carried out only with samples of fresh sunflower, grass silages and maize silages, did not show predictive utility.

The estimation of OMD value by NIRS was considered between good and acceptable in fresh forages, hay and TMR, as well as in grass silages, being of moderate quality for maize silages. All the NIRS equations developed allowed the quantitative prediction of OMD of external samples, except in the case of hays, where the suitability of the

calibration equation was checked in a cross-validation procedure due to the limited number of samples available. The prediction error of the OMD values by NIRS was lower than 1,5 times the reference method error, indicating an excellent fitting. The predictive quality of the NIRS models for estimating the OMD of fresh forage and hay samples was higher compared with that observed for herbage and maize silages, with mean RPD values of 3,3 for fresh forage and hay, 2,6 for grass silage and 1,9 for maize silage. Applying NIRS models to the prediction of OMD (%) in the different groups of products led, in average, to the reduction by half of the standard error of prediction (SEP) of the best empirical models, from ±4,5% to ±2,4%, while explained variance was increased from 51% to 79% when the equations were tested in an independent groups of samples of same product.

The NIRS equation for prediction of the *in vivo* cell wall digestibility (NDFD) of maize silages performed poorly in external validation (RPD= 1,6) and proved useful only for the purpose of a basic classification in ranges of independent samples, even though the standard error of prediction (SEP= ± 4,8%) was very similar to the reference method error of the *in vivo* evaluations of this parameter (± 4,4%).

The empirical equations showed a low predictive ability for the *in situ* ruminal degradability parameters, particularly in the case of maize silages. The significant improvement in precision and accuracy achieved by the NIRS use, with respect to empirical equations, for the estimation of the effective degradability ($\boldsymbol{ED}$) values of DM, NDF and CP of independent samples of silages, is reflected in the increase of the percentage of explained variance by a factor between 50 and 53% and in the reduction of SEP between 43% and 36% for grass and maize silages, respectively. The direct prediction of $\boldsymbol{ED}$ values of DM, NDF, CP and STA by NIRS was more exact and precise than the NIRS equations for the estimation of the parameters that describe ruminal degradation kinetics. Among these, the immediately soluble fraction ($\boldsymbol{a}$) was the best predicted parameter by NIRS, followed by the insoluble but potentially degradable fraction ($\boldsymbol{b}$) whilst the values of the ruminal degradation rate ($\boldsymbol{c}$) were poorly predicted. Based on the RPD values of cross validation, NIRS equations obtained for grass silages allowed a quantitative prediction that ranked from an excellent to an acceptable quality of all degradability parameters of DM, NDF and CP, except for the rate of ruminal degradation of DM and CP, for which NIRS could only provide a quantitative prediction in ranges, not being possible to estimate $\boldsymbol{c}_{\mathrm{NFD}}$ value by NIRS.

For maize silages, the reliability of NIRS models was clearly lower, allowing only qualitative prediction in ranges of the effective degradability $\boldsymbol{ED}_{DM}$, $\boldsymbol{ED}_{CP}$, $\boldsymbol{ED}_{STA}$ and the soluble and potentially degradable fractions of DM and CP, not being of practical utility the NIRS equations for the prediction of the values of degradation rate $\boldsymbol{c}_{DM}$, $\boldsymbol{c}_{CP}$ and $\boldsymbol{c}_{STA}$ or any other parameter of degradation of cell wall, including the effective degradability $\boldsymbol{ED}_{NDF}$.

NIRS calibration models constructed for the prediction of fermentation parameters of samples of herbage silages or maize silages were more accurate and precise than global NIRS equations developed from the whole silage samples collection, showing that it is possible to obtain satisfactory quantitative predictions of pH values and of the lactic acid, acetic acid, soluble nitrogen (N) and ammonia-N contents in both herbage and maize silage samples, whilst the quality prediction by NIRS of the ethanol content in maize silages only allowed a basic classification in ranges. In general, the fermentation products with lower volatility losses during oven drying (lactic vs. ethanol and acetic) showed better NIRS predictions.

It is confirmed the utility of the NIRS models developed in the present work as a tool for the rapid and precise nutritional evaluation of the forages and TMR used in Galician dairy farms. The availability of these equations will therefore facilitate the farmers' adoption of strategic decisions regarding the management of forage area, the need of concentrate supplementation and the formulation of economic rations, promoting the optimization of the use of forages in the dairy cows' feeding rations and helping, at the same time, to minimize the environmental impact of dairy farming.

The NIRS models developed in the present study are currently operational for routine use after being transferred the spectral and mathematical information between the CIAM and LIGAL NIRS instruments, which are standardized for sharing the calibrations between them. The results of the present work led to a substantial improvement in the quality, coverage and analytical capacity of the LIGAL in the area of feed analysis. At the same time, the NIRS equations are actually providing support for research purposes and forage breeding programs at the CIAM.

In a process of continuous improvement of the NIRS equations obtained, the collections of feed samples must be subjected to a permanent updating and re-calibration of the

existing models in order to incorporate as much as possible of the variability found in the practical conditions of application of the NIRS prediction equations.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

ABREVIATURAS UTILIZADAS

A: absorbancia

a: fracción inmediatamente degradábel

a_{ALM}: fracción inmediatamente degradábel do amidón

ACET: ácido acético

ACP: análise de compoñentes principais

AFIA: Asociación de Industrias de Alimentación Animal de Australia

a_{FND}: fracción inmediatamente degradábel da fibra neutro deterxente

AOAC: Association of Official Analytical Chemists

AMD: amidón

a_{MS}: fracción inmediatamente degradábel da materia seca

ANOVA: análise da varianza

a_{PB}: fracción inmediatamente degradábel da proteína bruta

b: fracción insolúbel pero potencialmente degradábel

b_{ALM}: fracción insolúbel pero potencialmente degradábel do amidón

b_{FND}: fracción insolúbel pero potencialmente degradábel da fibra neutro deterxente

b_{MS}: fracción insolúbel pero potencialmente degradábel da materia seca

b_{PB}: fracción insolúbel pero potencialmente degradábel da proteína bruta

BUT: ácido butírico

c: velocidade de degradación ruminal da fracción insolúbel pero potencialmente degradábel

c_{ALM}: velocidade de degradación ruminal da fracción insolúbel pero potencialmente degradábel do amidón

CEL: celulosa

c_{FND}: velocidade de degradación ruminal da fracción insolúbel pero potencialmente degradábel da fibra neutro deterxente

CIAM: Centro de Investigacións Agrarias de Mabegondo

c_{MS}: velocidade de degradación ruminal da fracción insolúbel pero potencialmente degradábel da materia seca

CNET: carbohidratos non estruturais totais

CP: compoñentes principais

c_{PB}: velocidade de degradación ruminal da fracción insolúbel pero potencialmente degradábel da proteína bruta

CSA: carbohidratos solúbeis en auga

CV: coeficiente de variación

CZ: cinzas

DFND: dixestibilidade de fibra neutro deterxente

DMO: dixestibilidade da materia orgánica

DoTT: dixestibilidade da materia orgánica método Tilley-Terry

DMS: dixestibilidade da materia seca

D_{MS}TT: dixestibilidade da materia seca método Tilley-Terry

DoGas: dixestibilidade da materia orgánica método produción de gas

DOMD: materia orgánica dixestíbel por unidade de materia seca

DoNDC: dixestibilidade enzimática da materia orgánica método fibra neutro deterxente-celulasa

DoPC: dixestibilidade enzimática da materia orgánica método pepsina-celulasa

DP: degradabilidade potencial

DP_{ALM}: degradabilidade potencial do amidón

DP_{FND}: degradabilidade potencial da fibra neutro deterxente

DP_{MS}: degradabilidade potencial da materia seca

DP_{PB}: degradabilidade potencial da proteína bruta

D: corrección da tendencia (*detrend*)

DT: degradabilidade teórica ou efectiva

DT_{ALM}: degradabilidade teórica ou efectiva do amidón

DT_{FND}: degradabilidade teórica ou efectiva da fibra neutro deterxente

DT_{MS}: degradabilidade ruminal teórica efectiva da materia seca

DT_{PB}: degradabilidade ruminal teórica ou efectiva da proteína bruta

EE: extracto etéreo

ELN: extractivos libres de nitróxeno

EM: enerxía metabolizábel

EN: enerxía neta

ENLm: enerxía neta leite a nivel de mantemento

EtOH: etanol

FAD: fibra ácido deterxente

FB: fibra bruta

FEDNA: Federación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal

FEGA: Fondo Español de Garantía Agraria

FND: fibra neutro deterxente

GH: distancia global estandarizada de Mahalanobis

HCEL: hemicelulosa

INRA: Institut National de la Recherche Agronomique

ISOBUT: ácido isobutírico

ISOVAL: ácido isovalérico

k: taxa fraccional de paso no rume

LAD: lignina ácido deterxente

LAFIGA: Laboratorio Agrario e Fitopatolóxico de Galicia

LIGAL: Laboratorio Interprofesional Galego de Análise do Leite

Max: valor máximo

Min: valor mínimo

MLR: regresión lineal múltiple (*multiple lineal regression*)

MO: materia orgánica

MOD: materia orgánica dixestíbel

MPLS: regresión mediante mínimos cadrados parciais modificada (*modified partial least squares regression*)

MS: materia seca

MSC: corrección de efectos aditivos ou multiplicativos causados pola dispersión (*multiplicative scatter correction*)

N: nitróxeno

NIRS: espectroscopía de reflectancia no infravermello cercano

N-NH_3: nitróxeno amoniacal

NRC: National Research Council

N-Solúbel: mitróxeno solúbel

NT: nitróxeno total

PB: proteína bruta

PCR: regresión por compoñentes principais (*principal component regression*)

PLS: regresión mediante mínimos cadrados parciais (*partial least squares regression*)

PROP: ácido propiónico

r: coeficiente de correlación de Pearson

R: reflectancia

R^2: coeficiente de determinación do modelo de calibración

r^2: coeficiente de determinación en validación externa

REDALAN: Rede Española de Alimentación Animal

RER: relación entre o rango de valores de referencia e o erro estándar de validación cruzada ou de predición

RER_{vc}: relación entre rango de valores e o erro de predición en validación cruzada

RER_{ve}: relación entre rango de valores e o erro de predición en validación externa

RMS: raíz media cuadrática (*root mean square*)

RPD: relación entre a desviación estándar do conxunto de mostras para o valor de referencia e o erro estándar de validación cruzada ou de predición

RPD_{vc}: relación entre a desviación estándar e o erro de predición en validación cruzada

RPD_{ve}: relación entre a desviación estándar e o erro de predición en validación externa

RSD: erro estándar residual

s.e: erro estándar do coeficiente da ecuación de regresión

SAU: superficie agraria útil

SD: desviación estándar

SEC: erro estándar de calibración

SECV: erro estándar de validación cruzada

SEL: erro estándar de laboratorio

SEP: erro estándar de predición

SEP_c: erro estándar de predición corrixido por bias

SERIDA: Servicio Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario

SNV: transformación que estandariza e centra os datos de absorbancia de cada lonxitude de onda (*standard normal variate*)

T: estadístico T, análogo a unha t de Student

TDN: total de nutrintes dixestíbeis

UE: Unión Europea

VAL: ácido valérico

W-MSC: corrección del efecto multiplicativo da dispersión promediada (*weight multiplicative scatter correction*)

$1 - VR$: coeficiente de determinación da validación cruzada

ÍNDICE TÁBOAS

1	Composición media anual da dieta consumida polas vacas en lactación, en porcentaxe sobre a MS total	15
2	Consumo medio de forraxes, concentrados e materias primas nunha mostra de explotacións de leite de Galiza, en porcentaxe de cada alimento sobre o total de MS anual da explotación	15
3	Valores medios (e desviación estándar) do contido en materia seca, composición química, dixestibilidade e parámetros fermentativos dos principais alimentos utilizados nas explotacións leiteiras galegas	17
4	Valores medios (e rango de variación) da composición química e dixestibilidade da materia orgánica de cultivos forraxeiros pratenses e anuais de Francia	22
5	Capacidade preditiva dos compoñentes da parede celular para estimar a dixestibilidade da materia orgánica das forraxes	33
6	Capacidade preditiva de diversas ecuacións de regresión baseadas nos contidos en PB e compoñentes da parede celular para estimar a dixestibilidade da materia orgánica de forraxes	33
7	Valores medios de composición química e dixestibilidade *in vivo* da materia orgánica da colección de mostras de forraxes verdes, ensilaxes e fenos da Rede Española de Alimentación Animal (REDALAN) 2003-2006	39
8	Mellores modelos de predición de DMO baseadas en compoñentes químicos obtidos para a colección de mostras de forraxes da Rede Española de Alimentación Animal (REDALAN) 2003-2006	40
9	Tamaño do conxunto de calibración utilizado por diversos autores para o desenvolvemento de modelos de predición NIRS	55
10	Precisión esperada en determinacións de laboratorio para determinar o valor nutricional de forraxes	57
11	Criterio de interpretación do parámetro coeficiente de determinación da validación cruzada $(1 - VR)$	60
12	Calidade da predición das ecuacións NIRS en función do parámetro RER	61
13	Clasificación de valores dos estatísticos de RPD e RER nas calibracións NIRS para o control de produtos e procesos	62
14	Criterios de interpretación dos valores do coeficiente de variación en relación co control NIRS de produtos e procesos	63

15 Comparación da calidade preditiva de parámetros químicos de distintas forraxes mediante NIRS en mostras secas e moídas 67

16 Comparación da calidade preditiva de parámetros fermentativos de distintas ensilaxes mediante NIRS 76

17 Rango de variación para os erros de predición dos principais parámetros determinados en forraxes e alimentos destinados aos ruminantes no INRA 81

18 Comparación da calidade preditiva da dixestibilidade e valor enerxético de distintas forraxes mediante NIRS 84

19 Comparación da calidade preditiva dos parámetros da degradabilidade ruminal de distintas forraxes mediante NIRS 88

20 Tamaño e características da composición botánica do colectivo de mostras 98

21 Número de mostras con determinacións de dixestibilidade *in vivo* e de dixestibilidade *in vitro* corrixidas por estándares nos diferentes grupos de forraxes e mesturas *unifeed* 106

22 Erro estándar do método de referencia para a determinación da composición química e dixestibilidade *in vitro* e *in vivo* 108

23 Erro estándar do método de referencia para a determinación de parámetros de calidade fermentativa de ensilaxes 108

24 Erro estándar do método de referencia na determinación de parámetros de degradabilidade ruminal *in situ* de ensilaxes de herba e ensilaxes de planta enteira de millo 109

25 Composición química e dixestibilidade da materia orgánica da colección total de mostras de forraxes frescas utilizadas para a obtención de ecuacións empíricas para a predición de DMO 117

26 Matriz de correlacións entre parámetros de composición química e dixestibilidade da materia orgánica do total da colección universal de mostras de forraxes frescas utilizadas para a obtención de ecuacións empíricas 118

27 Ecuacións universais baseadas en parámetros químicos para a predición da dixestibilidade da materia orgánica da colección de mostras de forraxes frescas 120

28 Estatísticos de calibración e validación das ecuacións universais baseadas en parámetros químicos para a predición da dixestibilidade da materia orgánica das mostras de forraxes frescas 120

29 Estatísticos de calibración e validación cruzada das ecuacións NIRS para estimación da composición química e da dixestibilidade da materia orgánica da colección de mostras de forraxes frescas 124

30 Composición química e dixestibilidade da materia orgánica da colección de mostras de pastos frescos 128

31 Composición química e dixestibilidade da materia orgánica da colección de mostras de pastos frescos, por especie e grupos de especies 130

32 Matriz de correlacións entre parámetros de composición química e dixestibilidade da materia orgánica da colección de mostras de pastos 134

33 Coeficiente de correlación entre os constituíntes químicos e o valor de DMO para as coleccións de mostras de pastos de gramíneas, de leguminosas e de mesturas 134

34a Ecuacións de predición da dixestibilidade da materia orgánica de pastos frescos en base a parámetros químicos 138

34b Ecuacións de predición da dixestibilidade da materia orgánica de pastos frescos en base a parámetros químicos (Continuación) 139

35 Estatísticos de calibración e validación cruzada das ecuacións NIRS para estimación da composición química e da dixestibilidade da materia orgánica de mostras de pastos frescos 143

36 Composición química e dixestibilidade da colección de mostras de chícharo, de triticale e das súas mesturas, en estado fresco 146

37 Composición química e dixestibilidade da colección de mostras de chícharo, triticale e as súas mesturas, en estado fresco 147

38 Matriz de correlacións entre parámetros de composición química e dixestibilidade da materia orgánica da colección de mostras de chícharo, de triticale e das súas mesturas, en estado fresco 149

39 Coeficiente de correlación entre os constituíntes químicos e o valor de DMO para as tres coleccións de mostras de cultivos de inverno, en estado fresco 149

40a Ecuacións de predición da dixestibilidade da materia orgánica en base a parámetros químicos da colección de mostras de chícharo, de triticale e das súas mesturas, en estado fresco 153

40b Ecuacións de predición da dixestibilidade da materia orgánica en base a parámetros químicos da colección de mostras de chícharo, de triticale e das súas mesturas, en estado fresco (Continuación) 154

41 Estatísticos de calibración e validación cruzada das ecuacións NIRS para estimación da composición química e da dixestibilidade da materia orgánica de mostras de chícharo, de triticale e das súas mesturas en estado fresco 158

42 Composición química e dixestibilidade da materia orgánica da colección de mostras de planta enteira de millo en estado fresco utilizadas para a construción das ecuacións empíricas 161

43 Matriz de correlacións entre parámetros de composición química e dixestibilidade da materia orgánica da colección de mostras de planta enteira de millo en estado fresco 162

44 Ecuacións de predición da dixestibilidade da materia orgánica de planta enteira de millo en estado fresco en base a parámetros químicos 163

45 Estatísticos de calibración e validación cruzada das ecuacións NIRS para estimación da composición química e da dixestibilidade da materia orgánica de mostras de planta enteira de millo en estado fresco 166

46 Composición química e dixestibilidade da colección de mostras de planta enteira de sorgo e os seus compoñentes morfolóxicos, en estado fresco, utilizadas para a obtención das ecuacións empíricas 170

47 Matriz de correlacións entre parámetros de composición química e dixestibilidade da materia orgánica da colección de planta enteira de sorgo e os seus compoñentes morfolóxicos, en estado fresco 170

48 Ecuacións de predición da dixestibilidade da materia orgánica en base a parámetros químicos da colección de planta enteira de sorgo e os seus compoñentes morfolóxicos, en estado fresco 172

49 Estatísticos de calibración e validación cruzada das ecuacións NIRS para estimación da composición química e da dixestibilidade da materia orgánica de mostras de planta enteira de sorgo e os seus compoñentes morfolóxicos, en estado fresco 175

50 Composición química e dixestibilidade da colección de mostras de planta enteira de xirasol e os seus compoñentes morfolóxicos, en estado fresco 178

51 Composición das distintas fraccións da planta de xirasol en estado fresco 179

52 Matriz de correlacións entre parámetros de composición química e dixestibilidade da materia orgánica da colección de planta enteira de xirasol e os seus compoñentes morfolóxicos, en estado fresco 180

53 Ecuacións de predición da dixestibilidade da materia orgánica en base a parámetros químicos da colección de mostras de planta enteira de xirasol e os seus compoñentes morfolóxicos, en estado fresco 182

54 Estatísticos de calibración e validación cruzada das ecuacións NIRS para estimación da composición química e da dixestibilidade da materia orgánica de mostras de planta enteira de xirasol e as súas fraccións, en estado fresco 186

55 Composición química e dixestibilidade da materia orgánica da colección total de mostras de forraxes ensiladas utilizadas na construción de ecuacións empíricas 190

56 Matriz de correlacións entre parámetros de composición química e dixestibilidade da materia orgánica da colección de forraxes ensiladas utilizadas para a construción de ecuacións empíricas 191

57 Ecuacións baseadas en parámetros químicos para a predición da dixestibilidade da materia orgánica do total de mostras de forraxes ensiladas 193

58 Estatísticos de calibración e validación das ecuacións baseadas en parámetros químicos para a predición da dixestibilidade da materia orgánica do total de mostras de forraxes ensiladas 193

59 Estatísticos de calibración e validación cruzada das ecuacións NIRS para estimación da composición química e da dixestibilidade da materia orgánica da colección de mostras de forraxes ensiladas 196

60 Composición química e dixestibilidade da colección de mostras de ensilaxe de herba 199

61 Matriz de correlacións entre parámetros de composición química e dixestibilidade da materia orgánica da colección de mostras de ensilaxes de herba e cultivos de inverno 200

62 Ecuacións de predición da dixestibilidade da materia orgánica en base a parámetros químicos da colección de mostras de ensilaxes de herba e cultivos de inverno 203

63 Estatísticos de calibración e validación cruzada das ecuacións NIRS para estimación da composición química e da dixestibilidade da materia orgánica de mostras de ensilaxes de herba 207

64 Composición química e dixestibilidade da materia orgánica da colección de mostras de ensilaxes de planta enteira de millo 210

65 Matriz de correlacións entre parámetros de composición química e dixestibilidade da materia orgánica da colección de mostras de ensilaxes de planta enteira de millo 211

66 Ecuacións de predición da dixestibilidade da materia orgánica en base a parámetros químicos da colección de mostras de ensilaxes de planta enteira de millo 213

67 Características da colección de mostras de ensilaxes de millo utilizadas para estimar a dixestibilidade *in vivo* da fibra neutro deterxente mediante ecuacións empíricas baseadas en parámetros químicos 214

68 Ecuacións de predición da dixestibilidade da fibra neutro deterxente de ensilaxes de planta enteira de millo en base a parámetros químicos 216

69 Estatísticos de calibración e validación cruzada das ecuacións NIRS para a estimación da composición química e da dixestibilidade da materia orgánica e da parede celular de mostras de ensilaxes de planta enteira de millo 220

70 Composición química e dixestibilidade da materia orgánica da colección de mostras de fenos de herba utilizadas na obtención de ecuacións empíricas para a predición de DMO 224

71 Matriz de correlacións entre parámetros de composición química e dixestibilidade da materia orgánica da colección de mostras de fenos de herba utilizada para a obtención de ecuacións empíricas para a predición de DMO 225

72 Ecuacións de predición da dixestibilidade da materia orgánica de fenos de herba en base a parámetros químicos 226

73 Estatísticos de calibración e validación cruzada das ecuacións NIRS para a estimación da composición química e da dixestibilidade da materia orgánica de mostras de fenos de pradeira 228

74 Composición química e dixestibilidade da materia orgánica da colección de mostras de mesturas *unifeed* utilizadas na obtención de ecuacións empíricas para a predición de DMO 229

75 Matriz de correlacións entre parámetros de composición química e dixestibilidade da materia orgánica da colección de mostras de mesturas *unifeed* utilizadas para a obtención de ecuacións empíricas de predición de DMO 230

76 Ecuacións de predición da dixestibilidade da materia orgánica de mostras de mesturas *unifeed* en base a parámetros químicos 232

77 Estatísticos de calibración e validación cruzada das ecuacións NIRS para estimación da composición química e da dixestibilidade da materia orgánica de mostras de mesturas *unifeed* 236

78 Variabilidade dos parámetros de composición química e da cinética de degradabilidade ruminal das mostras de ensilaxes de herba determinados polos métodos de referencia 240

79 Correlación entre parámetros de degradabilidade ruminal *in situ* e composición química de ensilaxes de herba 242

80 Ecuacións de predición dos parámetros de degradabilidade ruminal da materia seca de ensilaxes de herba en base a parámetros químicos 245

81 Ecuacións de predición dos parámetros de degradabilidade ruminal da fibra neutro deterxente de ensilaxes de herba en base a parámetros químicos 246

82 Ecuacións de predición dos parámetros de degradabilidade ruminal da proteína bruta de ensilaxes de herba en base a parámetros químicos 247

83 Estatísticos de calibración e validación cruzada das ecuacións NIRS para estimación dos parámetros de degradabilidade ruminal *in situ* de ensilaxes de herba 252

84 Variabilidade dos parámetros de composición química e da cinética de degradabilidade ruminal das mostras de ensilaxes de planta enteira de millo determinados polos métodos de referencia 254

85 Correlacións entre parámetros de degradabilidade ruminal *in situ* e composición química de ensilaxes de planta enteira de millo 257

86 Predición dos parámetros de degradabilidade ruminal da materia seca de ensilaxes de planta enteira de millo en base a parámetros químicos 260

87 Predición dos parámetros de degradabilidade ruminal da fibra neutro deterxente de ensilaxes de planta enteira de millo en base a parámetros químicos 261

88 Predición dos parámetros de degradabilidade ruminal da proteína bruta de ensilaxes de planta enteira de millo en base a parámetros químicos 262

89 Predición dos parámetros de degradabilidade ruminal do amidón de ensilaxes de planta enteira de millo en base a parámetros químicos 263

90 Estatísticos de calibración e validación cruzada das ecuacións NIRS para estimación dos parámetros de degradabilidade ruminal *in situ* de ensilaxes de planta enteira de millo 268

91 Estatísticos de calibración e validación das ecuacións universais NIRS para a predición dos parámetros fermentativos de ensilaxes de herba e de planta enteira de millo 272

92 Estatísticos de calibración e validación das ecuacións NIRS para a predición dos parámetros fermentativos de ensilaxes de herba 277

93 Estatísticos de calibración e validación das ecuacións NIRS para a predición dos parámetros fermentativos de ensilaxes de planta enteira de millo 282

94 Calidade das ecuacións NIRS para a predición da dixestibilidade de forraxes diferentes, en estado fresco e conservados, procedentes dos traballos de diversos autores 293

95 Ecuacións de predición para estimación da DMO de pastos en base a constituíntes químicos a partir das Táboas INRA (2010) 300

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

ÍNDICE FIGURAS

1a	Plot de valores de composición química medidos polos métodos de referencia e de valores preditos polas ecuacións NIRS para a colección de mostras de forraxes frescas	125
1b	Plot de valores de composición química medidos polos métodos de referencia e de valores preditos polas ecuacións NIRS para a colección de mostras de forraxes frescas (Continuación)	126
2	Plot de valores de dixestibilidade da materia orgánica medidos polo método de referencia e de valores preditos polas ecuacións NIRS para a colección de mostras de forraxes frescas	126
3	Plot de valores de composición química medidos polos métodos de referencia e de valores preditos polas ecuacións NIRS en validación externa para mostras de pastos frescos	144
4	Plot de valores de dixestibilidade da materia orgánica medidos polo método de referencia e de valores preditos polas ecuacións NIRS en validación externa para mostras de pastos frescos	145
5	Plot de valores de composición química medidos polos métodos de referencia e de valores preditos polas ecuacións NIRS para mostras de chícharo, de triticale e das súas mesturas, en estado fresco	159
6	Plot de valores de dixestibilidade da materia orgánica medidos polo método de referencia e de valores preditos polas ecuacións NIRS para mostras de chícharo, de triticale e das súas mesturas, en estado fresco	160
7	Plot de valores de composición química medidos polos métodos de referencia e de valores preditos polas ecuacións NIRS en validación externa para mostras de planta enteira de millo en estado fresco	167
8	Plot de valores de dixestibilidade da materia orgánica medidos polo método de referencia e de valores preditos polas ecuacións NIRS en validación externa para mostras de planta enteira de millo en estado fresco	168
9a	Plot de valores de composición química medidos polos métodos de referencia e de valores preditos polas ecuacións NIRS para mostras de planta enteira de sorgo e os seus compoñentes morfolóxicos, en estado fresco	176
9b	Plot de valores de composición química medidos polos métodos de referencia e de valores preditos polas ecuacións NIRS para mostras de planta enteira de sorgo e os seu compoñentes morfolóxicos, en estado fresco (Continuación)	177

10 Plot de valores de dixestibilidade da materia orgánica medidos polo método de referencia e de valores preditos polas ecuacións NIRS para mostras de planta enteira de sorgo e os seus compoñentes morfolóxicos, en estado fresco 177

11a Plot de valores de composición química medidos polos métodos de referencia e de valores preditos polas ecuacións NIRS para mostras de planta enteira de xirasol e as súas fraccións, en estado fresco 187

11b Plot de valores de composición química medidos polos métodos de referencia e de valores preditos polas ecuacións NIRS para mostras de planta enteira de xirasol e as súas fraccións en estado fresco (Continuación) 188

12 Plot de valores de dixestibilidade da materia orgánica medidos polo método de referencia e de valores preditos polas ecuacións NIRS para mostras de planta enteira de xirasol e as súas fraccións, en estado fresco 189

13 Plot de valores de composición química medidos polos métodos de referencia e de valores preditos polas ecuacións NIRS para a colección de mostras de forraxes ensiladas 197

14 Plot de valores de dixestibilidade da materia orgánica medida polo método de referencia e de valores preditos polas ecuacións NIRS para a colección de mostras de forraxes ensiladas 198

15a Plot de valores de composición química medidos polos métodos de referencia e de valores preditos polas ecuacións NIRS para mostras de ensilaxes de herba 208

15b Plot de valores de composición química medidos polos métodos de referencia e de valores preditos polas ecuacións NIRS para mostras de ensilaxes de herba (Continuación) 209

16 Plot de valores de dixestibilidade da materia orgánica medidos polo método de referencia e de valores preditos polas ecuacións NIRS para mostras de ensilaxes de herba 209

17a Plot de valores de composición química medidos polos métodos de referencia e de valores preditos polas ecuacións NIRS para mostras de ensilaxes de planta enteira de millo 221

17b Plot de valores de composición química medidos polos métodos de referencia e de valores preditos polas ecuacións NIRS para mostras de ensilaxes de planta enteira de millo (Continuación) 222

18 Plot de valores de dixestibilidade da materia orgánica medidos polo método de referencia e de valores preditos polas ecuacións NIRS para mostras de ensilaxes de planta enteira de millo 222

19 Plot de valores de dixestibilidade da fibra neutro deterxente medidos polo método de referencia e de valores preditos polas ecuacións NIRS para mostras de ensilaxes de planta enteira de millo 223

20a Plot de valores de composición química medidos polos métodos de referencia e de valores preditos polas ecuacións NIRS para mostras de mesturas *unifeed* 237

20b Plot de valores de composición química medidos polos métodos de referencia e de valores preditos polas ecuacións NIRS para mostras de mesturas *unifeed* (Continuación) 238

21 Plot de valores de dixestibilidade da materia orgánica medidos polo método de referencia e de valores preditos polas ecuacións NIRS para mostras de mesturas *unifeed* 238

22 Plot de valores de parámetros fermentativos medidos polos métodos de referencia e de valores preditos polas ecuacións universais NIRS para mostras de ensilaxes de herba e de planta enteira de millo 273

23 Plot de valores de parámetros fermentativos medidos polos métodos de referencia e de valores preditos polas ecuacións NIRS para mostras de ensilaxes de herba 278

24 Plot de valores de parámetros fermentativos medidos polos métodos de referencia e de valores preditos polas ecuacións NIRS para mostras de ensilaxes de planta enteira de millo 283

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

Índice xeral

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

Índice xeral

1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA 11
1.1 A base forraxeira das explotacións de leite de Galiza 11
1.2 As forraxes predominantes nas explotacións leiteiras galegas 12
1.3 A necesidade de coñecer o valor nutricional das forraxes 18
1.4 Valoración nutricional de alimentos para ruminantes 19
1.5 Predición do valor enerxético das forraxes 23
1.6 Métodos de estimación do valor enerxético das forraxes 24
1.6.1 Determinación da dixestibilidade *in vivo* 25
1.6.2 Técnicas alternativas da estimación do valor enerxético de forraxes 27
1.6.2.1 Valores tabulares de composición de alimentos 27
1.6.2.2 Uso das ecuacións empíricas baseadas na composición nutricional das forraxes para estimar a dixestibilidade 29
1.6.2.3 Métodos *in vitro* 35
1.7 Ecuacións de predición da dixestibilidade de forraxes obtidas pola Rede Española de Alimentación Animal (REDALAN) 38
1.8 A caracterización proteica das forraxes 41
1.8.1 Medida *in situ* da degradabilidade ruminal 43
1.9 A Espectroscopía de reflectancia no infravermello cercano (NIRS) 44
1.9.1 Orixe e fundamento da tecnoloxía NIRS 44
1.9.2 Instrumentación e modos de análise 46
1.9.3 Quimiometría e a súa aplicación na tecnoloxía NIRS 48
1.9.4 Análise de compoñentes principais 51
1.9.5 Detección de mostras anómalas ou *outliers* 51
1.9.6 Análise cuantitativa 52
1.9.7 Selección do modelo de calibración 57
1.9.8 Avaliación da capacidade preditiva do modelo de calibración 58
1.9.9 Estandarización de instrumentos e transferencia de calibracións 63
1.9.10 Monitorización da validez das ecuacións NIRS 64

1.10 Utilización da tecnoloxía NIRS para a caracterización dos alimentos para o gando 65
1.10.1 Predición de compoñentes químicos 66
1.10.1.1 Cinzas 70
1.10.1.2 Proteína 71
1.10.1.3 Fibra 72
1.10.1.4 Extracto etéreo 73
1.10.1.5 Carbohidratos non estruturais 74
1.10.2 Predición de parámetros fermentativos en ensilaxes 75
1.10.3 Predición de parámetros biolóxicos 78
1.10.3.1 Predición da dixestibilidade 79
1.10.3.2 Predición de parámetros de degradabilidade ruminal 85
2. OBXECTIVOS 93
3. MATERIAL E MÉTODOS 97
3.1 Material vexetal 97
3.1.1 Forraxes frescas 97
3.1.1.1 Herba de pradeiras, pastos permanentes e cultivos de inverno de trevos anuais e as súas mesturas con raigrás 97
3.1.1.2 Chícharo, triticale e as súas mesturas 99
3.1.1.3 Planta enteira de millo 99
3.1.1.4 Planta enteira e compoñentes morfolóxicos de sorgo 99
3.1.1.5 Planta enteira e compoñentes morfolóxicos de xirasol 99
3.1.2 Forraxes ensiladas 100
3.1.2.1 Ensilaxes de herba 100
3.1.2.2 Ensilaxes de millo 101
3.1.3 Fenos de herba 101
3.1.4 Mesturas *unifeed* 101
3.2 Métodos analíticos de referencia 102
3.2.1 Análises químicas por vía húmida 102
3.2.2 Análises de parámetros fermentativos 103
3.2.3 Análises de parámetros biolóxicos 103
3.2.3.1 Determinación da dixestibilidade *in vivo* 103
3.2.3.2 Determinación da dixestibilidade *in vitro* 105
3.2.3.2 Degradabilidade ruminal *in situ* 106

3.2.4 Erro estándar dos métodos de referencia 107
3.3 Análise estatística na construción das ecuacións de regresión baseadas en parámetros químicos 109
3.4 Desenvolvemento de ecuacións NIRS 111
3.4.1 Análise e instrumentación NIRS 111
3.4.2 Tratamento quimiométrico dos datos espectrais 112
3.4.3 Selección das ecuacións de calibración NIRS e avaliación da súa capacidade preditiva 113
4. RESULTADOS 117
4.1 Modelos preditivos para determinar o valor nutricional de forraxes en estado fresco 117
4.1.1 Modelo xeral para forraxes en estado fresco 117
4.1.1.1 Ecuacións empíricas 117
4.1.1.2 Ecuacións NIRS para a predición da composición química e DMO 121
4.1.2 Pastos frescos 127
4.1.2.1 Ecuacións empíricas para a predición de DMO 127
4.1.2.2 Ecuacións NIRS para a predición da composición química e DMO 140
4.1.3 Cultivos de inverno: Chícharo, triticale e as súas mesturas en estado fresco .. 146
4.1.3.1 Ecuacións empíricas para a predición de DMO 146
4.1.3.2 Ecuacións NIRS para a predición da composición química e DMO 155
4.1.4 Planta enteira de millo en estado fresco 161
4.1.4.1 Ecuacións empíricas para a predición de DMO 161
4.1.4.2 Ecuacións NIRS para a predición da composición química e DMO 164
4.1.5 Planta enteira de sorgo e as súas fraccións en estado fresco 169
4.1.5.1 Ecuacións empíricas para a predición de DMO 169
4.1.5.2 Ecuacións NIRS para a predición da composición química e DMO 173
4.1.6 Planta enteira de xirasol e compoñentes morfolóxicos en estado fresco 178
4.1.6.1 Ecuacións empíricas para a predición de DMO 178
4.1.6.2 Ecuacións NIRS para a predición da composición química e DMO 183
4.2 Modelos preditivos para determinar o valor nutricional de forraxes ensiladas. 190
4.2.1 Modelo xeral para forraxes ensiladas 190
4.2.1.1 Ecuacións empíricas para a predición de DMO 190
4.2.1.2 Ecuacións NIRS para a predición da composición química e DMO 194
4.2.2 Ensilaxes de herba 199

4.2.2.1 Ecuacións empíricas para a predición de DMO 199
4.2.2.2 Ecuacións NIRS para a predición da composición química e DMO 204
4.2.3 Ensilaxes de planta enteira de millo 210
4.2.3.1 Ecuacións empíricas para a predición de DMO 210
4.2.3.2 Ecuacións empíricas para a predición de DFND 214
4.2.3.3 Ecuacións NIRS para a predición da composición química, DMO e DFND 217
4.3 Modelos preditivos para determinar o valor nutricional de fenos de herba 224
4.3.1 Ecuacións empíricas para a predición de DMO 224
4.3.2 Ecuacións NIRS para a predición da composición química e DMO 226
4.4 Modelos preditivos para determinar o valor nutricional de mesturas *unifeed* 229
4.4.1 Ecuacións empíricas para a predición de DMO 229
4.4.2 Ecuacións NIRS para a predición da composición química e DMO 233
4.5 Modelos preditivos para a estimación dos parámetros de degradabilidade ruminal *in situ* de ensilaxes de herba e de millo 239
4.5.1 Predición da degradabilidade ruminal de ensilaxes de herba 239
4.5.1.1 Ecuacións empíricas 239
4.5.1.2 Ecuacións NIRS 248
4.5.2 Predición da degradabilidade ruminal de ensilaxes de millo 253
4.5.2.1 Ecuacións empíricas 253
4.5.2.2 Ecuacións NIRS 264
4.6 Modelos preditivos para a estimación de parámetros fermentativos de ensilaxes. 269
4.6.1 Modelo xeral 269
4.6.2 Ensilaxes de herba 274
4.6.3 Ensilaxes de millo 279
5. DISCUSIÓN 287
5.1 Modelos xerais para a estimación da composición química e dixestibilidade de forraxes 287
5.2 Pastos frescos 297
5.3 Cultivos de inverno en estado fresco 304
5.4 Planta enteira de millo en estado fresco 310
5.5 Planta enteira de sorgo e fraccións en estado fresco 316
5.6 Planta enteira de xirasol e fraccións en estado fresco 321
5.7 Ensilaxes de herba 325

5.8 Ensilaxes de planta enteira de millo 334
5.9 Fenos de herba 343
5.10 Mesturas *unifeed* 348
5.11. Estimación da degradabilidade ruminal de ensilaxes de herba e de millo 353
5.11.1 Ensilaxes de herba 355
5.11.2 Ensilaxes de planta enteira de millo 360
5.12 Estimación de parámetros fermentativos de ensilaxes de herba e de millo 365
5.12.1 Modelo xeral 365
5.12.2 Ensilaxes de herba 368
5.12.3 Ensilaxes de planta enteira de millo 371
6. CONCLUSIÓNS 377
7. BIBLIOGRAFÍA 383

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

Revisión Bibliográfica

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1.1 A base forraxeira das explotacións de leite de Galiza

O sector de vacún leiteiro é unha actividade estratéxica en Galiza tanto polo valor económico xerado, directa e indirectamente, como pola súa contribución á ocupación no rural e a vertebración do territorio. Segundo indican os datos do FEGA (2020), actualmente as granxas galegas achegan o 39% do leite de vacún e o 55% das granxas do estado español, que conta cunha produción total de 7,3 Mt de leite de vaca procedente de 12,5 mil unidades de produción. Ditos valores converten a esta Comunidade Autónoma na maior rexión produtora de leite de vaca de España e a sitúan entre as 10 primeiras da Unión Europea (Eurostat, 2019).

O desenvolvemento do sector produtor de vacún leiteiro en Galiza foi unido ao incremento da importancia da utilización de forraxes ensiladas na alimentación do gando, acentuada nos últimos anos en paralelo a unha rápida concentración da produción nun número cada vez máis reducido de explotacións. Comparando a información obtida en enquisas realizadas no CIAM a unha ampla mostra de explotacións leiteiras galegas no ano 1996 (Flores *et al*., 2003) cos actuais datos de entregas de leite se observa que o número de explotacións se reduciu en 24 anos desde 47 mil a algo menos de 7 mil unidades, mentres que a produción de leite total aumentaba desde 1,8 a 2,9 millóns de toneladas e, consecuentemente, a produción por explotación se multiplicaba case por un factor de 10, pasando de 43 t/explotación en 1996 a 408 mil t/explotación en 2020.

Os datos doutra enquisa máis recente realizada en 2014 (Flores *et al*., 2017) mostran que a superficie forraxeira media das explotacións galegas en 2014 era de 20,7 ha, o que multiplicaba por un factor de 2,3 a superficie media das granxas en 1996 (8,7 ha), mentres que se rexistraba unha intensificación do uso forraxeiro da terra a favor dos cultivos destinados a alimentación animal en detrimento das superficies ocupadas por pastos permanentes, corroborando as observacións doutros autores, por exemplo Sineiro *et al*. (2009). O modelo produtivo conformado nas últimas décadas estivo condicionado polas limitacións estruturais das granxas, principalmente debidas á falta de dinamismo

no mercado da terra, o que dificultou a posibilidade de incrementar a base territorial (Sineiro *et al*., 2012; López-Iglesias, 2015), sen desbotar o efecto dunha relativamente favorábel relación entre o prezo dos concentrados e o prezo do leite até finais da primeira década do presente século, que favoreceu a implantación de modelos menos ligados á terra e cun maior uso de inputs externos. En todo caso, a incapacidade de acomodar o incremento no tamaño do rabaño co correspondente aumento da base territorial forraxeira, ocasionou un aumento da carga gandeira media e unha alta dependencia de alimentos importados, que a intensificación forraxeira puido paliar só parcialmente.

Nun escenario de prezos do leite desregulados dependentes da situación do mercado mundial, e prezos de insumos con tendencia claramente á alza, parece evidenciarse a necesidade de reorientar o actual modelo produtivo do sector lácteo galego cara sistemas máis ligados á terra, sendo unha das principais fortalezas do sector leiteiro galego a alta capacidade de produción de pastos e forraxes que lle confire as particulares condicións agroclimáticas da zona atlántica de Galiza onde se desenvolve a produción de leite de vacún.

1.2 As forraxes predominantes nas explotacións leiteiras galegas

A información precisa sobre a composición das dietas consumidas nas explotacións leiteiras galegas é escasa. Nos últimos anos, diversos traballos realizados no CIAM en colaboración con outros grupos de investigación en produción de leite de vacún da Cornixa Cantábrica e Navarra permitiron achegar información ao respecto dos sistemas de alimentación predominantes nas granxas da zona húmida do norte de España a traveso de diversos proxectos de investigación. A partir dos datos do inquérito realizado en 2014 sobre unha mostra de 461 explotacións leiteiras do Norte de España, das que 316 eran galegas e cuxos resultados se expuxeron no informe de Flores *et al*. (2017), se estima que, de media, as explotacións de leite de Galiza terían o 75% da superficie ocupada por herba de pradeiras ou de prados, correspondendo o resto a cultivos forraxeiros anuais, sendo maioritario de forma absoluta o millo, acompañado en contadas ocasións por outros cultivos de verán como o sorgo e máis raramente o xirasol.

Segundo esta fonte de información, nas terras de cultivo das explotacións galegas se segue polo regular un sistema forraxeiro intensivo de dous cultivos por ano, onde o

millo rota con raigrás italiano (en mestura ou non con trevos anuais) ou outros cultivos de inverno, como cereais de grao pequeno (centeo, triticale ou avea, fundamentalmente) en mestura ou non con algunha leguminosa (veza ou chícharo). Os cultivos de inverno e de verán son aproveitados como ensilado na súa práctica totalidade. O aproveitamento da herba como ensilado é realizado de forma xeral en tódalas explotacións, conservando desta forma os primeiros e ocasionalmente os segundos cortes e secando a herba no campo para realizar feno nos cortes tardíos de pradeiras a mediados-finais de xullo ou de prados en zonas máis húmidas, en ocasións mediante un único aproveitamento do crecemento de primavera-verán. Por outra banda, as proporcións relativas ocupadas por herba e cultivos forraxeiros cambian co tamaño das explotacións, existindo no conxunto da mostra estudada unha correlación positiva entre a porcentaxe de SAU ocupada polo cultivo de millo e o tamaño da explotación, a produción total de leite e a produtividade por vaca. Así, mentres que nas explotacións máis pequenas (< 175 t de leite/ano) a relación entre as respectivas superficies se aproximaba ao ratio 80/20, nas de máis de 325 t de leite/ano se incrementaba claramente a proporción de terras cultivadas, acadando un valor de 55/45 entre a porcentaxe de superficie de herba e de millo. Unicamente en determinadas explotacións de zonas máis altas e frías, onde o cultivo do millo presenta dificultades, as granxas de maior dimensión adoptan modelos baseados de forma case exclusiva no aproveitamento da herba mediante ensilado, alimentando as vacas estabuladas con racións completas onde predomina esta forraxe e que normalmente coexisten con granxas que realizan pastoreo coas vacas en produción durante os períodos de crecemento activo do pasto.

O estudo evidenciaba, por tanto, a maior intensificación da produción forraxeira nas explotacións máis grandes, dada a superior produtividade de MS por hectárea das rotacións de dous cultivos por ano con millo como cultivo de verán (18-20 t MS/ha para o total da rotación) que chegaría a duplicar á de prados e pradeiras (7-12 t MS/ha) segundo información extraída de diversos estudos do CIAM (Piñeiro e Díaz, 2005, Botana *et al*., 2016b).

Esta diversidade de aproveitamentos dos recursos forraxeiros configura os principais modelos produtivos das explotacións leiteiras galegas descritos noutros traballos, entre eles os de Flores *et al*. (2017), de Botana *et al*. (2018) e de Botana (2019), caracterizados pola realización ou non do pastoreo e pola proporción relativa das ensilaxes de millo e de herba na alimentación das vacas.

Como se indica no traballo de Botana *et al*. (2018), deixando aparte un reducido grupo de granxas que basean a alimentación forraxeira en fenos producidos na propia explotacións e alfalfas e outras forraxes desecadas procedentes do exterior, se estima que as explotacións de pastoreo, ocupando o 16% da SAU das explotacións de leite, co 12% do total das vacas, producirían o 9% do total do leite de Galiza, mentres que o grupo de granxas que basean a alimentación en ensilaxes de herba terían unha ocupación do 22% do total da SAU leiteira, manexarían o 17% das vacas e producirían o 13% do total do leite. Son as explotacións onde a ensilaxe de millo constitúe unha parte importante ou maioritaria da ración das vacas leiteiras as que constitúen a parte con maior peso produtivo galego xa que ocuparían o 58% da SAU total leiteira, manexando o 67% das vacas e sendo responsábeis de case o 75% da produción. Dentro das explotacións de pastoreo de Galiza, as ecolóxicas representarían unicamente o 2,3% da produción total de leite deste grupo en 2014, indicando as posibilidades de incremento desta actividade produtiva.

En canto á composición da dieta media das vacas leiteiras en produción nas explotacións galegas, na Táboa 1 se mostra, en base aos traballos anteriores, a participación dos distintos ingredientes na ración media anual expresados en porcentaxe sobre o total de materia seca (MS) consumida para os distintos sistemas de produción. Como pode observarse, no grupo de explotacións que representa o sistema de produción predominante e máis intensivo, baseado no uso de ensilaxe de millo, a proporción de forraxe na dieta diaria é aproximadamente do 60% da MS, representando os concentrados e materias primas o 40% restante, o que evidencia a importancia das forraxes, maioritariamente producidas na propia explotación, na alimentación das vacas. Neste grupo, aproximadamente os 2/3 da ración forraxeira son achegados polas ensilaxes de millo, correspondendo o resto ás ensilaxes de herba e forraxes secas. Unha proporción similar entre forraxes e concentrados (60/40) se observa no grupo de granxas que basean a alimentación forraxeira nas ensilaxes de herba, onde a ensilaxe de millo aínda ten certa presenza. As explotacións de pastoreo fan claramente un uso menos intensivo dos concentrados, representando estes unicamente o 20% da MS diaria total, mentres que a herba fresca supón case o 40% da ración, que se complementa, de media, con ensilaxes de herba e de millo e de forraxes secas no entorno do 16-12% e do 11% da MS total, respectivamente.

Táboa 1.- Composición media anual da dieta consumida polas vacas en lactación, en porcentaxe sobre a MS total

Tipo de sistema	Herba fresca	Ensilaxe herba	Ensilaxe millo	Forraxes secas	Concentrados e mat. primas
Pastoreo	39,5	16,6	12,0	11,4	20,5
Ensilaxe de herba	0,0	44,5	13,1	3,0	39,4
Ensilaxes de herba/millo e ensilaxe millo	0,0	10,2-21,9	37,5-46,2	3,0-6,2	38,1-40,2

Fonte: elaboración propia a partir de Botana *et al*. (2018)

Outro traballo, realizado coa participación de 50 granxas leiteiras colaboradoras (Flores *et al*., 2019) permitiu obter información acerca da composición da dieta dos distintos grupos de animais, incluídas as vacas leiteiras en produción, a recría, vacas secas e resto de bovinos da explotación para ter un coñecemento máis aproximado acerca das cantidades e da composición das forraxes consumidas nas explotacións. Na Táboa 2 se reflicte, para os distintos tipos de explotacións, a proporción que representan as forraxes frescas e conservadas, concentrados e materias primas sobre o total anual de MS consumida polo gando bovino, agás os tenreiros lactantes, expresada en porcentaxe sobre a materia seca total.

Táboa 2.- Consumo medio de forraxes, concentrados e materias primas nunha mostra de explotacións de leite de Galiza, en porcentaxe de cada alimento sobre o total de MS anual da explotación

	Sistema de alimentación forraxeira predominante nas explotacións			
	Baseadas no Pastoreo		Baseadas en Ensilaxes	
	Ecolóxicas	Convencionais	Herba	Millo e Millo/herba
Herba verde	45,7	32,4	9,7	1,7
Ensilaxe de herba	22,8	30,0	28,5	19,8
Ensilaxe de millo	4,0	3,3	6,6	31,8
Concentrado comercial	14,6	22,9	41,0	33,5
Herba seca	8,6	6,4	8,0	4,7
Palla	1,8	3,8	2,5	4,7
Alfalfa, feno	2,2	0,1	1,8	0,3
Polpa remolacha	0,0	0,9	0,0	0,0
Melaza	0,0	0,0	0,4	0,1
Fariña cereal	0,3	0,1	1,4	0,1
Torta de soia	0,0	0,0	0,0	1,0
Grao húmido de millo	0,0	0,1	0,0	1,3
Bagazo de cervexa	0,0	0,0	0,0	0,9

Fonte: Flores *et al*. (2019)

Como se pode observar, as ensilaxes de herba forman unha parte importante da dieta media anual en tódalas tipoloxías de explotacións (20-30% da MS total), só superadas

pola contribución da herba fresca nas explotacións de pastoreo (32-45% da MS total) e pola ensilaxe de millo nas máis intensivas (31,8% da MS total). As forraxes secas contribúen aproximadamente nun 10-12% adicional e os concentrados comerciais, cunha ampla variación (14-41% da MS total) completan a práctica totalidade do consumo, con menos dun 3% para outras materias primas alternativas.

Derivados dos datos obtidos no traballo anterior, na Táboa 3 se indican os valores medios dos parámetros de composición química e dixestibilidade dos principais alimentos consumidos na mostra das explotacións leiteiras galegas cooperantes, así como da calidade fermentativa das ensilaxes de herba e de millo. A herba fresca mostrou os valores máis altos de dixestibilidade da materia orgánica (DMO: 72,2%) e de proteína bruta (PB: 18,5% MS) e unha baixa proporción de paredes celulares (fibra neutro deterxente, FND: 45,3% MS) mostrando o elevado valor nutricional desta forraxe. As ensilaxes de millo mostraron un valor de DMO tamén elevado pero algo máis baixo que o da herba fresca (70,1%), cun baixo valor proteico (7,0% MS) e un contido en FND semellante ao da herba fresca (45,8% MS) indicando o seu alto valor enerxético e elevada inxestibilidade potencial. As ensilaxes de herba mostraron valores medios de DMO (64,4%) e de PB (11,3% MS) máis baixos que os correspondentes á herba fresca, así como un teor máis elevado de paredes celulares (55% MS) o cal reflicte fundamentalmente o estado de madurez máis avanzado da herba nos cortes para ensilar comparado co aproveitamento a dente. Os fenos mostraron a baixa calidade nutricional que caracteriza aos cortes tardíos de prados e pradeiras realizados a mediados de verán coa herba nun avanzado estado de madurez, mostrando una reducida dixestibilidade (49,8%), baixo contido proteico (6,9% MS) e alta proporción de paredes celulares (69,3% MS). Por outra banda, a composición da palla, procedente polo xeral das zonas cerealistas da meseta, mostra o valor nutricional medio máis baixo (DMO: 39,2%; PB: 3,9% MS; FND: 81,6% MS) sendo unicamente empregada como fonte de fibra ou para cama do gando.

O contido en MS das ensilaxes de herba (36,2%) reflicten a realización xeneralizada do presecado da herba segada no campo que consegue promover, de media, unha correcta calidade fermentativa, mostrando valores de pH de 4,10 e unha fermentación predominantemente láctica, con valores de ácido acético (ACET) inferiores ao 2% MS e de ácido láctico (LACT) próximos ao 7% MS, mentres que a proporción de nitróxeno

(N) amoniacal respecto do N total mostra un valor medio de 6,6%, por debaixo do valor umbral do 7-8% que caracteriza ás ensilaxes cunha reducida proteólise no silo (Pflaum *et al*., 1997). As ensilaxes de millo reproduciron os típicos valores desta forraxe evidenciando a súa capacidade para fermentar correctamente, cun contido medio en MS do 32,3%, baixo pH (3,57) e contidos de láctico (6,4% MS), acético (1,6% MS) e N amoniacal (8,7% MS) frecuentemente encontrados nas ensilaxes desta planta.

Táboa 3.- Valores medios (e desviación estándar) do contido en materia seca, composición química, dixestibilidade e parámetros fermentativos dos principais alimentos utilizados nas explotacións leiteiras galegas

	Herba (n=72)	E. Herba (n=256)	E. Millo (n=194)	Feno (n=51)	Palla (n=33)	Unifeed (n=93)	Concentrado (n=190)
MS	18,3 *(4,8)*	36,2 *(10,3)*	32,3 *(3,6)*	-	-	44,5 *(7,3)*	86,5 *(0,9)*
MO	88,7 *(2,1)*	91,6 *(1,9)*	96,3 *(0,5)*	93,6 *(1,2)*	94,9 *(0,8)*	92,9 *(1,5)*	94,3 *(1,1)*
PB	18,5 *(4,4)*	11,3 *(2,7)*	7,0 *(1,0)*	6,9 *(2,8)*	3,9 *(0,4)*	15,0 *(1,6)*	19,8 *(4,2)*
FND	45,3 *(6,7)*	55,6 *(6,8)*	45,8 *(3,5)*	69,3 *(8,3)*	81,6 *(2,7)*	38,7 *(3,4)*	-
FAD	25,1 *(4,5)*	36,0 *(4,3)*	24,7 *(2,9)*	41,8 *(4,6)*	49,1 *(2,7)*	22,4 *(2,8)*	-
FB	-	-	-	-	-	18,3 *(2,4)*	5,7 *(1,6)*
CSA	9,4 *(3,4)*	-	-	-	-	-	-
EE	-	-	-	-	-	3,5 *(0,6)*	3,8 *(1,1)*
ALM	-	-	28,7 *(5,8)*	-	-	23,5 *(5,0)*	33,8 *(7,5)*
DMO	72,2 *(4,4)*	64,4 *(6,4)*	70,1 *(1,9)*	49,8 *(10,0)*	39,2 *(3,1)*	74,6 *(3,2)*	-
pH	-	4,07 *(0,45)*	3,58 *(0,13)*	-	-	-	-
LACT	-	6,9 *(4,2)*	6,4 *(1,6)*	-	-	-	-
ACET	-	1,9 *(0,8)*	1,6 *(0,4)*	-	-	-	-
N-Solúbel	-	46,6 *(9,9)*	60,4 *(5,1)*	-	-	-	-
$N\text{-}NH_3$	-	6,6 *(3,8)*	8,7 *(1,2)*	-	-	-	-

n: número de observacións; MS: materia seca (%); MO: materia orgánica (%MS); PB: proteína bruta (%MS); FND: fibra neutro deterxente (%MS); FAD: fibra ácido deterxente (%MS); FB: fibra bruta (%MS); CSA: carbohidratos solúbeis en auga (%MS); EE: extracto etéreo (%MS); ALM: amidón (%MS); DMO: dixestibilidade da MO (%); LACT: ácido láctico (%MS); ACET: ácido acético (%MS); N-Solúbel: Nitróxeno (N) solúbel (% N Total); $N\text{-}NH_3$: N amoniacal (% N Total)
Fonte: Flores *et al*. (2019)

1.3 A necesidade de coñecer o valor nutricional das forraxes

Os ruminantes ocupan unha posición estratéxica con relación ao home, producindo proteína de alto valor biolóxico para o seu consumo, a partir de alimentos fibrosos e fontes de nitróxeno non proteico que non poden ser utilizados directamente polos humanos. Por esta razón, os ruminantes se sitúan nun nicho ecolóxico vital como vectores de nutrientes para os humanos (Van Soest, 1994). Nunha revisión sobre os impactos medioambientais das estratexias de alimentación animal, Tamminga (1996) indica que o uso de enerxía fósil na obtención de alimentos para ruminantes varía, por kg de materia seca producida, de 1 a 3 megaxulios para as forraxes até máis de 8 megaxulios para os concentrados, indicando que a intensificación forraxeira das explotacións é unha vía de reducir el input de enerxía fósil destinada á produción de alimentos para o gando, e así contribuír á diminuír o impacto medioambiental da produción gandeira.

O coñecemento preciso da composición dos alimentos para o gando é unha condición necesaria para a súa utilización eficiente na alimentación animal, a través da preparación de dietas económicas e equilibradas. Tal información é clave cando se trata de alcanzar os altos niveis de produción animal requiridos hoxe en día nos mercados competitivos actuais, sen esquecer os requirimentos dos consumidores acerca da calidade e seguridade dos produtos, así como a sensibilidade dos consumidores cara sistemas de produción cun impacto ambiental menor. Para aproveitar as capacidades dos programas informáticos complexos desenvoltos nos últimos anos para o cálculo de racións para o gando vacún, utilizadas pola maioría dos nutricionistas, é necesario dispoñer dun sistema preciso e fiábel de valoración nutricional dos ingredientes que compoñen as racións. Desta forma, o nutricionista que formula as racións para o gando vacún de leite necesita coñecer, fundamentalmente, o contido enerxético e o valor proteico das forraxes. O avance dos coñecementos científicos sobre a fermentación ruminal obrigou a cambios importantes na formulación de racións para vacas de leite. A sincronía ruminal dos aportes de enerxía e proteína permite reducir os custos de alimentación, mellorar o benestar animal en base á redución dos desequilibrios do funcionamento ruminal e diminuír a concentración de NH_3 no rume (Sniffen *et al*., 1992), diminuíndo a excreción de N ao medio, coa conseguinte redución do impacto ambiental da actividade gandeira.

A necesidade de contar con métodos que permitan realizar unha avaliación nutritiva das forraxes se xustifica debido á elevada variabilidade que presentan no seu valor nutricional e á alta contribución relativa que realizan ao total da materia seca consumida polas vacas de leite. O seu coñecemento é un prerequisito para a formulación de racións, para a súa avaliación económica e para a predición das respostas animais obtidas (Buckmaster e Muller, 1994). Por outra parte, como indican entre outros autores Hristov *et al*. (2010) e McBeth *et al*. (2013) o coñecemento da composición química e o valor nutricional dos alimentos para o gando é fundamental para a planificación da produción forraxeira das explotacións, de forma que os cultivos elixidos e o seu manexo respondan as necesidades dunha dieta equilibrada e económica para os animais a cuxo consumo van destinados e para elaborar e utilizar de forma precisa das racións de vacas leiteiras como elemento fundamental para unha produción de leite rendíbel e respectuosa co medio ambiente.

1.4 Valoración nutricional de alimentos para ruminantes

O valor nutritivo é un concepto multifactorial, pero convencionalmente se clasifica polo nutricionista en tres compoñentes xerais: capacidade de inxestión voluntaria (inxestibilidade), concentración enerxética e valor nitroxenado (Van Soest, 1982). En xeral, a produción animal está limitada en primeiro lugar polo subministro de enerxía e en segundo lugar polo subministro de proteína (Weller e Jones, 2002).

O valor nutritivo das forraxes varía fundamentalmente debido a factores relacionados co seu xenotipo, estado fisiolóxico, factores de medio e a consecuencia dos procesos aos que son sometidos (variabilidade intrínseca). Outra importante fonte de variabilidade, con frecuencia ignorada, xorde das diferenzas na metodoloxía utilizada na obtención da información (variabilidade extrínseca), toda vez que os procedementos de análise e os protocolos de obtención de información con animais poden variar de acordo co laboratorio ou centro experimental onde se desenvolven os traballos.

Os sistemas tradicionais para determinar o contido de fibra vexetal desde o punto nutricional o método de análise proximal ou de Weende e o método de fraccionamento de Van Soest. A metodoloxía de análise de Weende foi ideado por Henneberg e Stohmann (1859) na estación experimental de Weende (Alemaña). O método consiste en separar, a partir da MS da mostra, unha serie de fraccións que presentan unhas certas

características comúns de solubilidade ou insolubilidade en diferentes reactivos. Con este método obtéñense cinco principios nutritivos brutos que inclúen: 1) as cinzas (CZ) compostos de materiais inorgánicos en xeral, 2) a proteína bruta (PB) que xunto á proteína verdadeira inclúe péptidos, aminoácidos, bases nitroxenadas, amidas e outros compostos nitroxenados, 3) o extracto etéreo (EE) composto por graxas, ceras, resinas, lípidos complexos, pigmentos e vitaminas liposolubles, 4) a fibra bruta (FB) integrada por celulosa (CEL), hemicelulosa (HCEL), lignina e cutina e 5) os extractivos libres de nitróxeno (ELN) que se compoñen de amidón e azucres ademais de recoller unha porción doutros compostos integrantes doutras fraccións. As catro primeiras fraccións (CZ, PB, FB, EE) obtéñense a partir de análises específicas, mentres que a quinta (ELN) calcúlase restando á porcentaxe de MS as catro fraccións anteriores.

Os nutrólogos consideran a análise proximal dos alimentos arcaica e pouco exacta, debido fundamentalmente a que o contido en FB subestima a proporción de paredes celulares na planta e recupera só unha fracción variábel de HCEL, CEL e lignina que aparecen incorporadas á fracción ELN (Van Soest, 1994), razón pola cal en numerosos casos a dixestibilidade de ELN é máis baixa que a da propia FB. Sen embargo, o método de determinación da FB do sistema Weende segue a ser utilizado hoxe porque é un método oficial da AOAC e existe unha ampla base de datos acumulada procedente de forraxes moi diversos, ademais de ser un método analítico de baixa dificultade (Jung, 1997).

Un avance substancial na descrición nutricional dos alimentos do gando foi a proposta analítica de P. Van Soest (1963) que dividía aos compoñentes do alimento en tres fraccións en relación ao aproveitamento dixestivo do animal (totalmente dixestíbel, parcialmente dixestíbel e indixestíbel), sendo este o sistema máis difundido globalmente. Os compostos obtidos mediante esta técnica teñen, por tanto, unha aparente significación biolóxica, acorde co aproveitamento que os ruminantes fan dos mesmos. No desenvolvemento do modelo (Van Soest, 1994) se consideran dúas partes diferenciadas na célula vexetal: o contido celular ou protoplasto, constituído por sustancias dixestíbeis, e a parede celular, de dixestibilidade variábel, realizándose a separación das dúas fraccións mediante o uso de deterxentes iónicos. Así, o contido celular (constituído por sustancias hidrosolúbeis, azucres, lípidos, ácidos orgánicos, pectinas, amidón, proteínas e nitróxeno non proteico) é solúbel en deterxente neutro, mentres que a fracción insolúbel, excepto as pectinas, corresponde aos constituíntes da

parede celular ou FND. Nesta fracción, a súa vez, divídese nunha parte solúbel en deterxente ácido composta por HCEL e proteína e outra fracción insolúbel constituída por CEL, LAD, compostos nitroxenados lignificados, cutina e a proteína alterada pola calor, denominada fibra ácido deterxente (FAD).

A dixestibilidade do contido celular dunha forraxe é practicamente total, mentres que a celulosa, a hemicelulosa e as pectinas son degradadas mediante enzimas producidas polas bacterias do rume, sendo a lignina, polo contrario, completamente indixestíbel (Van Soest, 1994). A lignina está unida mediante enlaces covalentes á celulosa e sobre todo á hemicelulosa e limita a eficacia de acción dos microorganismos ruminais na hidrólise destes compostos. Consecuentemente, a dixestibilidade das forraxes está determinada fundamentalmente polo grao de lignificación das paredes celulares conxuntamente coa proporción desta fracción na MS total (Goering e Van Soest, 1970).

Diversos sistemas de alimentación de ruminantes (entre outros NRC 2001 e INRA 2010) utilizan os valores de FND e FAD relacionándoos, respectivamente, coa inxestibilidade potencial e coa dixestibilidade das forraxes, sendo establecidos níveis umbral ou obxectivo destes constituíntes para optimizar a utilización da ración e garantir un correcto funcionamento do rume.

No detallado estudo sobre a composición química e a dixestibilidade *in vivo* das forraxeiras clásicas de Francia, Demarquilly e Andrieu (1992) describiron as principais características dunha ampla mostra de forraxes en estado fresco (Táboa 4) incluíndo pratenses e outros cultivos forraxeiros anuais. Comparando con resultados doutros países europeos, os autores indican que os resultados franceses terían un valor orientativo para outros países do norte de Europa, polo menos para os primeiros ciclos das especies pratenses e para os cultivos forraxeiros anuais, polo que é de interese a súa revisión.

No citado estudo se inclúen os resultados de máis de 1700 mostras de diferentes especies pratenses colleitadas desde o estado vexetativo até a floración para os primeiros ciclos e os rebrotes sucesivos á idade de 4-8 semanas. Os contidos medios (en %MS) de CZ, PB e FB foron de 10,0%, 14,5% e 27,0%, respectivamente, mentres que o da DMO foi de 71,0%. Existe un amplo rango de variación, en particular para o contido en PB, sobre todo en gramíneas, onde pode variar de 5,0 a 27,5 %MS. Polo contrario, o

criterio menos variábel é a DMO, aínda que o rango de variación é importante, desde o 50% ao 86% para o conxunto das forraxes estudadas.

Táboa 4.- Valores medios (e rango de variación) da composición química e dixestibilidade da materia orgánica de cultivos forraxeiros pratenses e anuais de Francia

Forraxe	n	MS	CZ	PB	FB	DMO
Pradeira temporal, gramíneas	916	19,1 *(10-34)*	10,8 *(5-24)*	14,3 *(5-27)*	26,8 *(15-38)*	71,5 *(49-84)*
Pradeira natural	295	19,2 *(11-35)*	9,4 *(5-21)*	14,3 *(8-23)*	27,0 *(17-36)*	69,5 *(50-82)*
Pradeira temporal, ano de sementeira	141	16,5 *(10-25)*	13,0 *(8-20)*	18,9 *(10-27)*	24,3 *(16-31)*	76,0 *(60-84)*
Alfalfa	172	21,3 *(14-27)*	11,2 *(4-17)*	22,1 *(16-28)*	27,8 *(16-37)*	66,0 *(56-80)*
Trevo violeta	56	15,7 *(11-24)*	11,8 *(9-16)*	19,2 *(12-24)*	22,3 *(12-31)*	72,0 *(57-83)*
Herba en estado de pastoreo	139	19,2 *(12-38)*	12,1 *(7-20)*	15,9 *(8-26)*	27,2 *(18-36)*	74,4 *(66-85)*
Millo tras a floración	82	23,4 *(13-33)*	5,7 *(3-8)*	8,8 *(5-11)*	20,1 *(14-25)*	71,5 *(67-79)*
Cereais tras a floración†	15	32,2 *(23-41)*	6,98 *(4-9)*	7,2 *(5-10)*	29,7 *(26-35)*	60,6 *(57-63)*
Chícharo tras a floración	3	25,0 *(18-33)*	8,8 *(8-9)*	17,2 *(16-17)*	18,6 *(18-19)*	75,4 *(73-75)*

n: número de observacións; MS: materia seca (%); CZ: cinzas (%MS); PB: proteína bruta (%MS); FB: fibra bruta (%MS); DMO: dixestibilidade da materia orgánica (%)
† avea, trigo, cebada, centeo e sorgo forraxeiro
Fonte: Demarquilly e Andrieu (1992)

Para outros cultivos forraxeiros, o citado traballo de Demarquilly e Andrieu (1992) mostra rangos de variación máis estreitos que no caso das pratenses. No caso da planta de millo, a DMO é practicamente constante desde a floración á madurez do grao (valor medio 71-72%) posto que o incremento no total da planta da proporción de espiga, cuxa dixestibilidade é constante e arredor dun 83%, compensa o descenso de dixestibilidade do resto da planta, que descende desde o 70 ao 60% entre ambos estados. Os sorgos forraxeiros e os cereais grao teñen unha dixestibilidade próxima ao 80% en estado vexetativo, antes do comezo de elongación dos talos, e diminúe rapidamente a partir do encanado, para estabilizarse a partir do estado leitoso do grao, con valores entre o 58% (avea, centeo e sorgo forraxeiro) e o 63% (trigo e cebada). Na fase de maduración a DMO é claramente máis baixa que a da planta de millo, debido a que os talos destas

forraxeiras son máis ricos en paredes celulares. Os cultivos de proteaxinosas, como é o caso do chícharo, son moito máis ricos en PB (rango 15,0-19,0 %MS) que a planta de millo. A dixestibilidade é algo superior á da planta de millo, estando pouco relacionada coa composición química da forraxe, toda vez que a pesar do incremento do contido en FB desde a floración ao estado de maduración do grao a DMO é practicamente constante en ambos estados.

Ademais de polas características intrínsecas da forraxe no momento do corte, o valor nutricional das ensilaxes está condicionado fundamentalmente pola calidade de fermentación desenvolta durante o almacenamento no silo (Demarquilly *et al*., 1973) sendo aquela sumamente variábel dependendo da ensilabilidade da forraxe e do tratamento post-colleita (McDonald, 1979), o cal afecta particularmente ao valor nitroxenado e a inxestibilidade voluntaria da ensilaxe, e en menor medida ao valor da dixestibilidade, en comparación coa da forraxe orixinal (Woolford, 1984; Rinne, 2000; Huhtanen *et al*., 2007).

1.5 Predición do valor enerxético das forraxes

A aplicación práctica dos sistemas de avaliación de alimentos asumen que as características dos alimentos son variábeis mentres que as respostas animais ante un alimento ou dieta dados son comparativamente reproducíbeis. Sen embargo, Van Soest (1982) observou unha variabilidade nas medidas de inxestibilidade entre animais superior ás das determinacións de dixestibilidade, indicando que son de esperar coeficientes de variación entre animais da orde do 3 e 30% para as determinacións de dixestibilidade e inxestión, respectivamente.

O valor da enerxía metabolizábel (EM) dun alimento está condicionado fundamentalmente polo valor da dixestibilidade (Dijkstra *et al*., 2005), mentres que a magnitude das variacións no contido en enerxía bruta, perdas en ouriños e metano son moito menores comparativamente, da mesma forma que as variacións na eficiencia de utilización da EM con propósitos de mantemento ou produción no animal (Alderman, 1979). A predición do valor enerxético, expresado como enerxía neta (EN) ou EM, consiste usualmente en estimar en primeiro lugar o valor de DMO (Aufrére e Guerin, 1996) a partir do cal se estiman os contidos en EM e/ou EN. O valor de DMO, por outra parte, utilízase nos sistemas de avaliación proteica para calcular a materia orgánica

(MO) fermentábel no rume, que a súa vez se utiliza para estimar a síntese ruminal de proteína microbiana (Verité *et al*., 1987).

Seguindo o sistema de valoración enerxética do Reino Unido, baixo a asunción de que a enerxía bruta da MO dixestíbel é practicamente constante, se propuxo o uso do valor DOMD (concentración da MO dixestíbel na MS) como un índice do contido enerxético das forraxes (MAFF, 1984). A relación entre o valor da enerxía metabolizábel e DOMD vén dada pola expresión EM (MJ/kg MS) = 0,157 x DOMD (%MS), onde este último valor se calcula como DOMD (%MS) = DMO (%) x MO (%MS) x 0,01. No caso das ensilaxes de herba o factor 0,157 toma o valor de 0,160 debido ao maior valor da enerxía bruta destas forraxes (AFRC, 1993).

Alternativamente, a Asociación de Industrias de Alimentación Animal de Australia (AFIA, 2011) recomendan o uso das seguintes ecuacións para obter EM a partir de DOMD: a) para forraxes distintas a ensilaxes: EM (MJ/kg MS) = 0,203 x DOMD (%MS) - 3,0 e b) para ensilaxes: EM (MJ/kg MS) = 0,16 x DOMD (%MS).

No sistema estadounidense a concentración do total de nutrintes dixestíbeis (TDN) é a base para a estimación do valor enerxético dos alimentos. O cálculo de TDN se realiza en función da dixestibilidade das distintas fraccións obtidas por análise proximal, existindo unha estreita relación entre o valor TDN dunha forraxe e a concentración de MO dixestíbel na materia seca. A partir de 100 determinacións de valor enerxético en forraxes diversos, colleitados en distintos estados de madurez, Heaney e Pidgen (1963) obtiveron relacións entre o valor de TDN e o valor DOMD, segundo a expresión: TDN (%MS) = 1,018 x DOMD (%MS) - 0,27 (R^2 = 0,99; RSD = 0,44).

1.6 Métodos de estimación do valor enerxético das forraxes

O resultado máis exacto e repetíbel da dixestibilidade das forraxes obtense mediante ensaios con animais (estudos *in vivo*). Este método non é práctico como unha rutina de análise por mor das obvias limitacións de custo, tempo e man de obra, sendo utilizado como a referencia ou "pedra de toque" fronte á cal se deben comparar outros métodos indirectos de estimación. Estes métodos alternativos baséanse en: i) relacións empíricas entre a composición química da forraxe e dixestibilidade, incluíndo as ecuacións sumativas, ii) dixestión *in vitro* e *in situ* de forraxes e iii) a estimación polo método de espectroscopía de reflectancia no infravermello cercano (NIRS).

O desenvolvemento nas dúas últimas décadas do século XX da tecnoloxía NIRS para a estimación da calidade das forraxes significou unha revolución neste campo permitindo tanto a estimación directa dos valores de dixestibilidade e degradabilidade ruminal como a estimación de diversos parámetros de composición das forraxes para ser posteriormente usados nos modelos de regresión para a estimación indirecta do valor nutricional (Murray, 1993). Na maior parte dos casos, as ecuacións de predición baseadas en parámetros químicos explican a menor proporción de varianza da dixestibilidade *in vivo* comparado con outros métodos. Esta proporción se reduce progresivamente conforme a dixestibilidade das mostras é menor. Na práctica só poden ser xustificados en termos de custo e rapidez fronte aos métodos *in vitro* con líquido ruminal ou enzimas, e pola incapacidade de acceso á tecnoloxía NIRS.

1.6.1 Determinación da dixestibilidade *in vivo*

As técnicas para a determinación do valor enerxético das forraxes baséanse na medida directa da dixestibilidade *in vivo* da materia orgánica utilizando animais machos da raza ovina por razóns de operatividade, toda vez que as medidas de dixestibilidade medidas en gando ovino son extrapolábeis ao gando vacún efectuando as oportunas correccións en función do nivel de alimentación en que se realizou a medición (Yan *et al*., 2002; Huhtanen *et al*., 2006a; INRA, 2018). Habitualmente, as avaliacións de DMO *in vivo* realízanse alimentando a ovinos coa forraxe problema, aloxados en gaiolas metabólicas dotadas de separadores de feces e ouriños, deseñadas de maneira que se minimice o estrés dos animais, realizándose durante a avaliación o control e toma de mostras diario para cada animal do alimento ofertado e rexeitado e da produción de feces. Posto que se trata de técnicas complexas, longas e caras, só se utilizan para formar colección de mostras de referencia ou con propósitos de investigación.

Como indica Van Soest (1982) a medida da dixestibilidade *in vivo* ten unha alta reproducibilidade, se ben a variabilidade observada nos ensaios está inversamente relacionada coa dixestibilidade do alimento avaliado. A mínima variabilidade esperada en ditos ensaios, expresada en termos de desviación estándar do valor medio é de ±2% DMO, para ensaios correctamente executados e cun nivel de alimentación restrinxido. Dito valor usualmente se incrementa para forraxes de baixa calidade, para maiores niveis de inxesta ou con animais de características heteroxéneas, pudendo tomarse esta diferenza de 2

unidades como o límite inferior de significación biolóxica na discusión dos resultados de dixestibilidade dos alimentos para ruminantes.

En relación aos factores inflúen sobre a dixestibilidade, Wilkins (1969) indica que a redución do tempo de exposición do alimento á microbiota do rume, reduce a actividade dos microrganismos celulolíticos que levará unha redución da dixestibilidade da parede celular. Un dos máis importantes é a velocidade de paso do alimento polo rume, determinado polo tipo de alimento, a dixestibilidade, o contido en fibra do mesmo e da súa forma de presentación. Tyrrell e Moe (1975) estudaron o efecto do nivel de alimentación das forraxes na eficiencia coa que son dixeridos polo gando ovino, concluíndo que o incremento da inxesta reduce a dixestibilidade da fibra das forraxes debido, entre outros factores, á redución do tempo de permanencia do alimento no rume. Estes autores indican que a depresión da dixestibilidade có incremento do nivel de alimentación faise claramente patente para as dietas con alto contido en concentrado, mentres que cando as forraxes se ofrecen como único alimento os cambios na eficiencia dixestiva có incremento do nivel de alimentación son máis reducidos.

Doreau *et al*. (2000) indican que, en condicións onde os animais son alimentados por baixo das necesidades de mantemento, a dixestibilidade da dieta é con certa frecuencia deprimida, suxerindo que unha posíbel causa sería a redución do crecemento bacteriano no rume por falta de enerxía ou de proteína dispoñíbel para os microorganismos. En dous traballos de meta-análise, realizados por Yan *et al*. (2002) en ovinos e vacún e Huhtanen *et al*. (2006a) en ovinos, indican a existencia dunha relación lineal entre a dixestibilidade a nivel de produción e a nivel mantemento, pero a pendente en ambos traballos foi inferior á unidade (0,68 e 0,64, respectivamente), indicando que a dixestibilidade a nivel de produción diminuíu a medida que a inxesta aumentou, e no caso de dietas con dixestibilidade alta, as depresións foron maiores ao aumentar a inxestión, en comparación coas dietas con dixestibilidade baixa.

Neste sentido, no sistema NRC (2001) se aplica un factor de desconto, que asume unha diminución da dixestibilidade, consecuencia dun aumento da inxestión, sendo maior canto máis alta sexa a dixestibilidade da ración a nivel de mantemento (Weiss, 2006). O proceso de picado dos alimentos favorece un tránsito máis rápido polo rume, favorecendo a inxesta, a costa en ocasións de reducir a dixestibilidade. Sen embargo na meta-análise realizada por Nasrollahi *et al*. (2015) utilizando datos publicados na

bibliografía entre 1998 e 2014, onde se avaliou o efecto do tamaño de partícula da forraxe sobre a inxestibilidade a dixestibilidade e a produción de leite en vacún leiteiro, foi observada unha correlación positiva entre a diminución do tamaño de partícula da forraxe, a inxestión voluntaria e a produción de leite, sen descensos apreciábeis da dixestibilidade.

1.6.2 Técnicas alternativas da estimación do valor enerxético de forraxes

A necesidade de dispor de métodos indirectos para estimar o valor enerxético das forraxes xurde da imposibilidade de utilizar as determinacións *in vivo* como rutina de análise a causa das obvias limitacións de custo, tempo e man de obra (Givens e Deaville, 1999; Gosselink *et al*., 2004). A crecente preocupación polo benestar animal causa unha maior presión da comunidade sobre os comités de ética, que veñen creando protocolos cada vez máis estritos e fomentando a redución ou, cando é posíbel, a substitución de animais por métodos de laboratorio alternativos. Ademais, nos procedementos *in vivo*, a adquisición de animais, os custos dos alimentos, a alta demanda de man de traballo e a duración do estudo son factores económicos extremadamente importantes, que a miúdo son responsábeis de inviabilidade da técnica. Entre os métodos alternativos para a asignación dun valor enerxético a unha forraxe ou alimento se citan a utilización de táboas de alimentación, o uso de ecuacións de regresión baseadas en parámetros químicos, as técnicas de dixestión *in vitro* e a espectroscopía NIR.

1.6.2.1 Valores tabulares de composición de alimentos

O uso de táboas de alimentos e bases de datos de orixe foránea, principalmente de procedencia francesa (INRA) e americana (NRC), foi tradicionalmente unha práctica habitual en España. Actualmente as táboas da Federación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal (FEDNA) alcanzaron unha difusión comparábel ás do INRA e NRC, se ben o seu alcance e número de entradas é limitado. O Servizo de Información sobre Alimentos da Universidade de Córdoba (www.uco.es/sia/) dispón dunha base de datos que integra información obtida en distintos laboratorios españois, entre eles os xerados no CIAM, sobre a composición química e valor nutritivo de forraxes (Maroto *et al*., 2011). Se ben o acudir aos valores tabulados para unha determinada forraxe semella o método máis fácil do que obter información, existe o inconveniente de que nas táboas de datos se recollen datos medios para cada especie acompañados, no mellor dos casos, do estado de

madurez da mostra cuxos valores se referencia na base de datos. A diferenza do que acontece con outros alimentos do gando, como cereais, graos de proteaxinosas e oleaxinosas, entre outros, que teñen unha composición relativamente pouco variábel, a composición e valor enerxético das forraxes, mesmo dunha especie determinada recollida nun estado fisiolóxico concreto pode ser moi diferente dependendo do solo, do clima, dos coidados culturais e do tratamento post-colleita, entre outros factores.

Por tanto a utilidade dos valores tabulados se limita a dar unha valiosa información acerca dos valores medios que en ningún caso se poden aplicar a mostras problema concretas, sobre todo no caso de táboas foráneas que proceden doutras áreas xeográficas e de cultivo diferentes a aquelas das que proceden as mostras cuxa composición e valor enerxético queremos coñecer. Por outra parte, a maioría das táboas de alimentos elabóranse mesturando información procedentes de fontes moi diversas, polo xeral analizadas con procedementos analíticos diferentes e non estandarizados, o cal é particularmente relevante no que ser refire ás estimación dos valores enerxéticos de forraxes.

Diversos estudos existentes na bibliografía que compararon resultados analíticos entre diversos laboratorios sinalan importantes diferenzas. Na bibliografía atopamos varios estudos que sinalan diferenzas importantes entre laboratorios. Por exemplo, Argamentería *et al*. (1993), analizando resultados de análises de forraxes realizados en 17 laboratorios españois polos mesmos métodos de referencia, indicaban valores medios de repetibilidade e reproducibilidade (en porcentaxe sobre o valor medio) de 0,76 e 3,01% para MS, de 4,4 e 5,8% para CZ, de 5,2 e 13,9% para PB e de 4,4 e 7,7% para FND. Para a DMO *in vitro* polo método FND-celulasa o erro medio de predición para o mesmo laboratorio era de ±2,3 unidades (%) e ascendía a ±13,8% unidades cando se tiñan en conta os resultados de tódolos laboratorios. Nun traballo realizado por Hristov *et al*. (2010), foi observada unha ampla variabilidade nos resultados dos contidos en FND de mostras de *unifeed* enviadas a distintos laboratorios comerciais e de investigación, debido as diferentes técnicas utilizadas, que acadaban valores de 34,2 a 41,3% MS para mostras de fenos de alfalfa e de 45,9 a 52,0% MS para mostras de ensilaxe de millo. Noutro traballo, Beever e Mould (2000) sinalaron grandes diferenzas no contido en proteína e amidón dunha mesma mostra de ensilaxe de millo analizada en nove laboratorios diferentes, cunha variación entre 16,5 e 27,2 %MS e entre 5,7 e 11,9 %MS para amidón e proteína, respectivamente. Este tipo de variabilidade debería ser minimizada para a obtención de resultados comparábeis e útiles. Para alcanzar a robustez necesaria, a

información relacionada coas características químicas e nutricionais dunha forraxe debe ser coidadosamente examinada antes da súa incorporación a unha base de datos e, unha vez incorporada, necesita ser manexada tamén con coidado. De non facelo así, producirase unha falsa variabilidade entre forraxes, que pode comprometer o uso na práctica da información xerada.

1.6.2.2 Uso das ecuacións empíricas baseadas na composición nutricional das forraxes para estimar a dixestibilidade

De uso xeneralizado desde hai décadas, as ecuacións empíricas obtidas a partir das asociacións estatísticas entre a dixestibilidade e determinadas fraccións químicas das mostras, son usadas aínda na actualidade para obter información acerca do valor enerxético de forraxes. Os métodos usados para predicir DMO consisten basicamente en definir relacións matemáticas para relacionar os valores *in vivo* cos resultados das análises realizadas no laboratorio (Vermorel, 1978).

A literatura científica contén unha ampla colección de ecuacións de predición que relacionan fraccións do alimento coa dixestibilidade, aspecto que foi revisado exhaustivamente por diversos autores, sendo de salientar o clásico traballo de Minson (1982), a este respecto. Os constituíntes dos alimentos poden ser clasificados, en relación ao seu efecto sobre a dixestibilidade, como uniformes e non uniformes atendendo ao test de Lucas (Lucas, 1964). As fraccións uniformes teñen dixestibilidade constante para todo tipo de alimentos (cinzas, lignina, solubles en deterxente neutro e ácidos graxos), mentres que as non uniformes (parede celular, por exemplo) mostran unha dixestibilidade variábel entre diferentes alimentos e para os mesmos alimentos dependendo de factores como estado de madurez e condicións ambientais, entre outros.

A existencia dunha correlación entre un constituínte do alimento e a dixestibilidade non implica necesariamente unha relación causal e pode deberse a unha mera asociación estatística. Por esta razón moitas ecuacións de predición baseadas en parámetros químicos son enteiramente dependentes da poboación na que se obtiveron, e a relación observada entre a variábel dependente (dixestibilidade ou contido enerxético) e os preditores non é a mesma para os distintos tipos de forraxes e incluso é diferente dentro da mesma forraxe, toda vez que esta relación está condicionada, entre outros, por factores ambientais, condicións de cultivo, procesado post-colleita e manexo no almacenamento até o seu consumo, entre outros (Weiss, 1993).

As ecuacións derívanse de regresións establecidas entre a DMO *in vivo* e a concentración dunha determinada fracción química, usualmente a estimación da parede celular, da lignocelulosa, da fibra bruta, da lignina ou a proteína. Estes modelos de regresión deben ser construídos e validados para áreas xeográficas concretas a partir de bases de datos suficientemente amplas construídas a partir de mostras analizadas por métodos de referencia no laboratorio e das cales se coñezan os valores de DMO *in vivo*. Baixo esta premisa, e dado o efecto que as condicións de medio exercen sobre a relación entre a composición química das forraxes e a súa DMO ou valor enerxético (Van Soest *et al*., 1978), é xeralmente recoñecido que a exactitude e precisión das estimacións proporcionadas polas ecuacións de predición de valor enerxético das forraxes será moito máis elevada cando se utilizan ecuacións obtidas na mesma área xeográfica de procedencia das mostras que recibe o laboratorio, comparado coa aplicación de ecuacións foráneas, procedentes doutros ambientes, e con frecuencia non contrastadas ou validadas.

A temperatura e a intensidade da luz afectan á lignificación da parede celular da forraxe, favorecendo as temperaturas suaves e a maior intensidade lumínica un menor grao de lignificación, mentres que temperaturas altas e baixa intensidade lumínica exerce un efecto contrario (Van Soest *et al*., 1978). Como consecuencia, mostras co mesmo contido químico en parede celular e incluso en lignina poden ter valores de DMO significativamente diferentes, motivado polo distinto grao de entrecruzamento da lignina coas cadeas de polisacáridos da parede celular a nivel molecular o que condiciona un diferente nivel de dispoñibilidade para a degradación microbiana das forraxes no rume (Deinum *et al*., 1968; Van Soest, 1994). É coñecido, a este respecto, que a igualdade da concentración de lignina entre gramíneas e leguminosas, estas mostran unha superior dixestibilidade da materia orgánica debido ao menor contido en paredes celulares, especialmente de hemicelulosa, e a un menor grao de interacción química entre a lignina e a hemicelulosa en comparación coas gramíneas (Gordon, 1975).

Frame *et al*. (1995) na súa revisión sobre os avances na tecnoloxía de produción e utilización de pastos acontecidos na segunda metade do século XX, indican que a predición do valor de enerxía metabolizábel a partir da dixestibilidade da forraxe se introduciu na década de 1960, en base á relativamente boa correlación estatística entre o contido en fibra e a dixestibilidade. O parámetro de calidade da herba máis citado era, sen embargo, a concentración de PB, seguido polo contido en carbohidratos solúbeis e a fibra bruta, sendo complementados pola estimación do valor enerxético derivado dos

valores de composición química. As ecuacións de regresión que relacionaban a dixestibilidade *in vivo* da materia orgánica como indicador do valor enerxético da forraxe (Raymond, 1969) integraban usualmente como preditor a concentración de paredes celulares e/ou as súas fraccións, acompañada ou non do contido en proteína e, menos frecuentemente, doutros compostos como o contido en carbohidratos non fibrosos (Jones e Moseley, 1993). A posta en práctica do sistema de análises con deterxentes para o fraccionamento da fibra (Van Soest, 1967) permitiu refinar as estimacións obtidas a partir do método proximal de Weende e lograr mellorar a estimación da dixestibilidade *in vivo* ou da enerxía metabolizábel das forraxes (AFRC, 1990).

Se acepta de forma xeral que as fraccións do alimento con maior influencia na dixestibilidade son os compoñentes da parede celular, toda vez que o contido celular das forraxes e os alimentos do gando en xeral son case enteiramente dixestíbeis para o ruminante (Van Soest, 1963; Goering e Van Soest, 1970). Os parámetros relacionados coa descrición da parede celular máis utilizados nas ecuacións de predición son FND, FAD e LAD. A predición das estimacións utilizando estas fraccións da fibra son variábeis tanto entre as distintas fracción como para a mesma fracción, pero en teoría o erro na predición debería reducirse progresivamente a medida que a fracción de fibra representa o constituínte máis indixestíbel, é dicir, desde FND a FAD e posteriormente a LAD (Kitessa *et al*., 1990). Sen embargo isto non é sempre certo debido, entre outros factores, ás imprecisións cometidas na determinación das fraccións, o cal afecta sobre todo á utilización da lignina como preditor, sobre todo no caso de forraxes e outros alimentos onde a súa concentración é baixa. Outro elemento de importancia é a variabilidade na expresión da mesma fracción, toda vez que a lignina nas forraxes pode ser expresada como LAD-permanganato (Van Soest, 1963), LAD-sulfúrico (Goering e Van Soest, 1970) ou lignina determinada con bromuro de acetilo (Morrison, 1972a,b) que renden valores lixeiramente diferentes sobre a mesma mostra.

A fiabilidade dos modelos de predición tende a mellorar, de forma xeral, cando aqueles se aplican ao mesmo tipo de forraxes usados para xerar as ecuacións, debido a que estas son poboación-dependentes e a súa aplicación a outros tipos de forraxe conleva un incremento no erro de predición (Weiss, 1994). A fin de solventar esta dependencia das coleccións utilizadas na calibración dos modelos, Goering e Van Soest (1970) desenvolveron ecuacións sumativas baseadas na uniformidade da dixestibilidade do

contido celular, determinado mediante a solubilidade no deterxente neutro, mediante a expresión DMS(%) = [0,98 x (100 - FND)] + ($k_{d\text{-}FND}$ x FND) - 12,9; onde DMS é a dixestibilidade da materia seca, FND se expresa en %MS e o coeficiente $k_{d\text{-}FND}$ é a dixestibilidade da FND (%), representado o valor 12,9 a excreción metabólica fecal. Como indican distintos autores, entre eles Aerts *et al*. (1977) o uso de ecuacións sumativas na predición da dixestibilidade, en comparación co uso de fraccións de fibra, permite obter unha maior precisión. Sen embargo, non evita o problema da estimación do valor de dixestibilidade da FND, o cal constitúe, en definitiva, o elemento esencial da determinación da dixestibilidade e valor enerxético dos alimentos.

Na revisión realizada por Kitessa *et al*. (1990) sobre métodos de estimación da dixestibilidade de alimentos para os ruminantes, se indica que a principal avantaxe de usar ecuacións baseadas na composición química das forraxes é que a determinación dos preditores é simple, razoabelmente rápida e relativamente barata. As súas desavantaxes se relacionaban, sobre todo, co feito de que non teñen en conta os efectos de determinados tratamentos e procesos que poden sufrir as mostras (mecánicos, químicos ou por calor, por exemplo) que teñen efecto sobre a dixestibilidade pero que non alteran substancialmente a composición química da mostra e que contribúen a explicar a súa menor precisión comparada con outros métodos alternativos. Como indica Osbourn (1978), a estimación da dixestibilidade da materia orgánica das forraxes mediante ecuacións a partir das concentracións de lignina ou de lignocelulosa ten un erro de como mínimo o 7% do valor predito, advertindo que o efecto do ambiente na relación entre a dixestibilidade e os preditores de composición química das forraxes implica un marcado incremento do erro cando as ecuacións se aplican fóra das zonas climáticas locais onde foron obtidas, ou en estacións con anomalías climáticas importantes. Cando se asocian os parámetros compoñentes da parede celular co contido en proteína, a estimación da dixestibilidade é razoabelmente precisa, con valores da desviación estándar residual (RSD) no entorno de ±4,0 unidades porcentuais e inferiores, sempre que se dispoñan de modelos por separado para cada especie e diferenciados para primeiros cortes e rebrotes (Jarrige, 1980).

Nas Táboas 5 e 6 se indica o valor do erro estándar de ecuacións de regresión univariábeis que usan os contidos de FB, FAD e LAD e de ecuacións que integran o valor de PB conxuntamente con compoñentes da parede celular como preditores para a estimación da DMO de distintas forraxes. Se pode observar a maior precisión da lignina

como preditor, polo xeral seguida da FAD e da FB ou FND, así como un erro relativamente máis elevado na estimación da dixestibilidade das ensilaxes de herba, comparativamente ao observado para forraxes en estado fresco e fenos (Van der Koelen e Van Es, 1973; Van Soest e Mertens, 1977; Jarrige, 1980).

Táboa 5.- Capacidade preditiva dos compoñentes da parede celular para estimar a dixestibilidade da materia orgánica das forraxes

Forraxes	n	*RSD*			Referencia
		FB	FAD	LAD	
Gramíneas e leguminosas	187	11,0	9,0	-	Van Soest e Mertens (1977)
Gramíneas frescas	12	-	3,0	2,2	Van der Koelen e Van Es (1973)
	41	4,1	-	-	"
Fenos de gramíneas	56	-	2,6	2,5	"
	75	2,8	-	-	"
Ensilaxes de herba	18	-	3,0	2,9	"
	30	4,4	-	-	"
Alfalfa	35	3,2	2,8	-	Jarrige (1980)
Gramíneas	57	4,3	4,4	-	"
Fenos de prado	32	2,8	2,4	-	"
Ensilaxes de herba	26	5,9	4,4	-	"

RSD: desviación estándar residual da ecuación de predición; n: número de observacións; FB: fibra bruta (%MS); FAD: fibra ácido deterxente (%MS); LAD: lignina ácido deterxente (%MS)

Táboa 6.- Capacidade preditiva de diversas ecuacións de regresión baseadas nos contidos en PB e compoñentes da parede celular para estimar a dixestibilidade da materia orgánica de forraxes

Forraxes	n	Valor de *RSD* na ecuación de regresión					
		PB, FB	PB, FAD	PB, HCEL	PB, CEL	PB, LAD	PB, FND
Gramíneas, frescas	96	4,2	4,1	4,9	4,6	3,0	4,1
Leguminosas, frescas	53	3,4	3,2	5,2	4,0	3,4	3,7
Fenos de prado	31	3,5	3,2	4,2	4,0	3,4	3,9

RSD: desviación estándar residual da ecuación de predición; n: número de observacións; PB: proteína bruta (%MS); FB: fibra bruta (%MS); FAD: fibra ácido deterxente (%MS); HCEL: hemicelulosa (%MS); LAD: lignina ácido deterxente (%MS); FND: fibra neutro deterxente (%MS)
Fonte: Jarrige (1980)

Nunha revisión das ecuacións de predición da dixestibilidade da materia orgánica de forraxes utilizadas en Francia (Aufrére *et al*., 2007; Baumont *et al*., 2009) se indica que as estimacións máis precisas de DMO se conseguiron mediante o método de solubilidade enzimática (Aufrére e Michalet-Doreau, 1990), cuxas ecuacións mostraron un erro de predición de entre ±2,7 a ±,2,0 unidades porcentuais, en tanto que a utilización de ecuacións empíricas baseadas nos contidos de FB e PB conlevaba un erro de predición entre ±3,5 e ±5,1 unidades. Na publicación das Táboas INRA (2010) se

ofrecen ecuacións de predición para a estimación da dixestibilidade da materia orgánica de forraxes frescos e conservados a partir de constituíntes químicos, indicando os estatísticos coeficiente de determinación R^2 e erro estándar residual RSD, pero sen reportar se as ecuacións foron sometidas a un proceso de validación cruzada ou externa. Para a estimación de DMO (%) de forraxes frescas, as ecuacións de regresión de dúas variábeis (PB e FB ou FAD) para pastos permanentes (n=89) mostran valores de R^2 de 0,73 e de RSD de ±3,0 a ±3,1%; para especies de gramíneas (n=874) o valor de R^2 varía entre 0,60 e 0,63 e o de RSD entre ±3,8 e ±4,0% e para especies leguminosas (n=172) se indican regresións univariábeis baseadas en FB ou FAD con valores respectivos de R^2 de 0,71 e 0,65 e de RSD de ±3,5 e ±3,9%. Para o millo fresco (n=254) se indica unha ecuación baseada en FB e PB con valores de R^2 e RSD de 0,40 e ±2,0%, respectivamente, mostrando valores claramente máis baixos tanto da porcentaxe de varianza explicada como do erro estándar residual, como consecuencia da menor variabilidade das colección de planta enteira de millo comparado coas forraxeiras pratenses. Nas citadas táboas, as colección de mostras nas que se derivaron as ecuacións para ensilaxes é moito máis reducida, considerándose que a dixestibilidade do millo ensilado se considera igual á obtida a partir da planta fresca. Para ensilaxes de pastos permanentes (n=26), ensilaxes de gramíneas (n=85) e ensilaxes de leguminosas (n=17), as Táboas INRA (2010) ofrecen ecuacións de regresión univariábeis baseadas en compoñentes da fibra. Cando se utilizan como preditores de DMO (%) os contidos de FB ou FND se obteñen valores respectivos de R^2 e RSD entre 0,73 e 0,74 e entre ±2,6 e ±2,6% para as ensilaxes de pastos permanentes, entre 0,72 e 0,64 e entre ±3,8 e ±3,4% para as ensilaxes de gramíneas e entre 0,71 e 0,78 e entre ±2,2 e ±1,9% para as ensilaxes de leguminosas, mostrando un maior poder preditivo da FAD comparada coa FB no caso das forraxes ensiladas. Na mesma publicación a colección de mostras das que se derivan as ecuacións para fenos teñen un tamaño moderado e, como nos casos anteriores, as ecuacións de predición de DMO se basean nos contidos de FB ou FAD e en PB para os fenos de pastos permanentes (n=54) ou fenos de gramíneas (n=74), mentres que para os fenos de leguminosas (n=20) as ecuacións de regresión teñen á FB ou a FAD como preditores. Os valores de R^2 e RSD para os distintos grupos son de 0,74 e ±2,6% para os pastos permanentes, de 0,64 a 0,74 e ±3,1 a ±2,7% para as gramíneas e de 0,71 a 0,78 e ±2,2 a ±1,9% para as leguminosas, sendo polo xeral FAD un mellor preditor que FB, como no caso das ensilaxes.

Para forraxes do Reino Unido, o AFRC (1993) publicou diversas ecuacións de regresión para a predición do valor de enerxía metabolizábel. Os modelos utilizaban como preditores parámetros químicos, como a FAD modificada (FAD_M) de Clancy e Wilson (1966) ou valores de dixestibilidade obtidos a partir de métodos *in vitro* mediante incubación con líquido ruminal ou solubilidade enzimática polo método FND-celulasa. Os valores do coeficiente de determinación R^2 dos modelos con FAD_M, dixestibilidade *in vitro* e enzimática como únicos preditores foron, respectivamente, de 0,59; 0,61 e 0,68 para herba fresca e de 0,67; 0,83 e 0,49 para fenos de herba, sendo máis baixos para ensilaxes de herba (0,14; 0,24 e 0,20, respectivamente), mentres que para ensilaxes de millo os correspondentes valores de R^2 foron de 0,46 para FAD_M e de 0,64 para a dixestibilidade enzimática. Nesta publicación non se indican resultados de validación das ecuacións, ao igual que no caso do INRA.

1.6.2.3 Métodos *in vitro*

Unha alternativa ao procedemento *in vivo* son os métodos *in vitro*, sendo unha opción viábel para reducir o número de animais utilizados, o tempo de recollida e a cantidade de alimentos a usar, permitindo ademais avaliar un elevado número de alimentos ou dietas de forma simultánea. Os métodos *in vitro* habitualmente utilizados para estimar a DMO de alimentos e forraxes, son tanto os baseados na utilización de líquido ruminal (Tilley e Terry, 1963), como os métodos enzimáticos pepsina-celulasa (McLeod e Minson, 1978; Riveros e Argamentería, 1987; Aufrère e Michalet-Doreau, 1988). A estes métodos cabe engadir a medida da produción de gas durante a incubación *in vitro* (Menke *et al*., 1979) como forma alternativa de estimar a dixestibilidade.

O método Tilley e Terry (1963), baseado na incubación das mostras de alimento en liquido ruminal e pepsina, intenta simular a dixestión ruminal e gástrica no animal e é un dos máis útiles para a predición da DMO en forraxes. O principal inconveniente desta técnica é, por unha banda, a elevada laboriosidade da súa determinación, o que non se adapta ben ás labores de estimación rutinaria nun laboratorio e, por outra, a súa dependencia dunha fonte de inóculo ruminal, coa conseguinte necesidade de instalacións e man de obra para o seu coidado. Unha das limitacións do método Tilley-Terry é que a pesar de que a comunidade microbiana posúe unha alta estabilidade (Weimer, 2015), os resultados das determinacións *in vitro* con líquido ruminal vense afectados pola variabilidade e calidade do líquido ruminal, que está influída, entre outros factores, polo animal, tipo de dieta e o momento de

extracción do liquido ruminal (Weiss, 1994). Para reducir dita variabilidade, o método require unha coidadosa estandarización na súa execución tanto no relativo ás dietas consumidas polos animais donantes como á metodoloxía de recollida e redución de tempos de manipulación, recomendándose obter o líquido ruminal en máis dun animal (Krizsan e Huhtanen, 2013; Palmonari *et al*., 2014), que no caso de ser da especie bovina se facilita a extracción e correcta manipulación do inóculo ruminal até a chegada ao laboratorio. Nun *ring-test* no cal participaron dez laboratorios, Hall e Mertens (2012) observaron unha significativa variabilidade entre aqueles para os valores da dixestibilidade de fibra neutro deterxente (DFND), o cal foi fundamentalmente atribuída ao número de individuos doantes utilizados e á composición da dieta consumida polos animais, que modificaba a efectividade do inóculo ruminal.

Diversos traballos investigaron a repetibilidade e reproducibilidade das determinacións por este método. Analizando unha base de datos de 482 mostras de dixestibilidade *in vivo* e *in vitro* (Tilley-Terry) coñecidas, procedentes de 21 laboratorios, Goldman *et al*. (1987) obtiveron ecuación de regresión para a predición de DMO *in vivo* (%) a partir dos valores *in vitro* con coeficientes de determinación R^2 de 0,96; 0,95 e 0,97 e valores de RSD de ±2,7, ±3,1 e ±2,2%, respectivamente. Os autores resaltan a utilidade da determinación da dixestibilidade *in vitro* para a construción de bases de datos de valor nutricional de forraxes amplas e robustas e sinalan a boa reproducibilidade de resultados entre laboratorios e a necesidade de que os valores *in vitro* estean corrixidos por estándares *in vivo*. A este respecto, Genizi *et al.* (1990) revisaron a relación entre os valores *in vivo* dunha colección de 104 mostras e os valores *in vitro* (Tilley-Terry) analizados en tres laboratorios diferentes onde se realizaba a corrección con estándares entre tandas, reportando unha alta correlación entre os valores *in vitro* dos diferentes laboratorios, con valores do coeficiente de correlación r entre 0,93 e 0,97 sendo aproximadamente da mesma magnitude para DMS e DMO.

Gierus *et al*. (2016) utilizaron o método de determinación de dixestibilidade *in vitro* (Tilley-Terry) para a estimación do valor de DMO e EM de cinco especies de leguminosas forraxeiras en Alemaña, efectuando a corrección dos valores *in vitro* por estándares de dixestibilidade *in vivo* coñecida e reportaron que os valores de R^2 entre os resultados obtidos para un subconxunto de mostras con valores *in vivo* e *in vitro* coñecidos se aproximaron á unidade, mostrando a capacidade do método Tilley-Terry para estimar o verdadeiro valor de dixestibilidade e de valor enerxético de forraxes.

Se considera que a determinación de dixestibilidade *in vitro* corrixida por estándares de dixestibilidade *in vivo* coñecida proporciona unha estimación fiábel da dixestibilidade das forraxes, como indica entre outros autores Weiss (1994) e Nousiainen (2004), dado o alto coeficiente de determinación das ecuacións de regresión (R^2>0,80) que relacionan ambos valores. Este criterio é compartido por diversos autores (p. ex.: Lundberg *et al*., 2004; Stalker *et al*., 2013) que fan notar que a construción de coleccións suficientemente robustas para as forraxes dunha zona a partir de mostras de dixestibilidade *in vivo* coñecida é frecuentemente inalcanzábel, sendo necesario recorrer a mostras avaliadas *in vitro* debidamente corrixidas por patróns de dixestibilidade *in vivo* coñecida. Neste sentido, na meta-análise realizada por Huhtanen *et al.* (2009) onde se estudou a relación entre os valores de DMO determinados *in vivo* en gando vacún e ovino e os valores de DMO *in vitro* con líquido ruminal, se observou que cando se usan valores de DMO *in vitro* corrixidos por estándares para predicir a DMO *in vivo* de gando vacún, o incremento do erro causado pola covarianza entre os estimadores non é importante cando a calibración *in vitro* se basea nun conxunto amplo de datos, citándose valores de n>80 e un rango de DMO de 58,1 a 84,0% no citado traballo. Como conclusión do mesmo, indican que os valores de DMO en gando vacún poden ser preditos con similar fiabilidade mediante a técnica de dixestibilidade *in vitro* con líquido ruminal, corrixidos con estándares de dixestibilidade *in vivo* coñecida, comparada coa determinación de dixestibilidade *in vivo* con ovinos alimentados a nível de mantemento.

Os métodos enzimáticos pepsina-celulasa substitúen o inóculo ruminal por celulasas comerciais, permitindo unha determinación máis sinxela, que demanda menos tempo de análise e non require a utilización de animais donantes, se ben polo xeral a capacidade dos enzimas comerciais para degradar a FND é substancialmente inferior á dos microbios ruminais (McQueen e Van Soest, 1975; Nousiainen, 2004). Con todo, o principal problema desta técnica é a variación na actividade das preparacións enzimáticas comerciais ao proceder de diferentes fontes fúnxicas ou de provedores diferentes, polo que pode variar a súa capacidade para solubilizar as paredes celulares (Krizsan *et al*., 2012), o que afecta a súa reproducibilidade. De Boever *et al*. (1988) recomendan a inclusión de estándares de dixestibilidade *in vivo* coñecida nas diferentes series, o cal permite reducir significativamente a variabilidade entre determinacións, mellorar a calidade das estimacións, e cando non se dispón de suficientes mostras de dixestibilidade *in vivo* coñecidas, constitúen a referencia para construír métodos de estimación alternativos. A

determinación da dixestibilidade da materia orgánica de forraxes utilizados en Francia (Aufrére *et al*., 2007; Baumont *et al*., 2009) baseada nas determinacións polo método de solubilidade enzimática pepsina-celulasa (Aufrére e Michalet-Doreau, 1990) ou os realizados en España a partir do método FND-celulasa de Riveros e Argamentería (1987) mostran que as estimacións de DMO *in vivo* teñen un erro de predición de entre ±2,5 a ±3,5 unidades porcentuais, claramente inferior á das ecuacións empíricas baseadas en parámetros químicos.

1.7 Ecuacións de predición da dixestibilidade de forraxes obtidas pola Rede Española de Alimentación Animal (REDALAN)

En España non está adoptada oficialmente ningunha unidade de medida das necesidades enerxéticas dos ruminantes nin do contido enerxético dos alimentos, o que indubidabelmente dificulta a adopción de técnicas analíticas encamiñadas á estimación dos parámetros nutricionais que requiren os modernos sistemas de alimentación. As diversas equipas españolas de investigación foron adoptando metodoloxías en función das necesidades de cada institución e das posibilidades existentes en cada momento, sendo xeradas diversas táboas de composición de alimentos adaptadas ás condicións de cada unidade. En determinados centros se levaron a cabo valoracións de alimentos para ruminantes por métodos *in vivo*, xerando mostras útiles para calibrar e comparar técnicas de predición da dixestibilidade *in vivo* de forraxes a partir de métodos de laboratorio.

Entre os anos 2003 e 2006 na Rede Temática de Nutrición de Ruminantes Española, financiada polo INIA se creou un banco de datos de mostras de forraxes dos que era coñecida a dixestibilidade *in vivo* da materia orgánica e cuxa información se pode consultar na páxina web do SERIDA (http://www.serida.org/redalan/dovivo.php) e que foi unha das bases da creación da citada base de datos do SIA da escola de enxeñeiros agrónomos da Universidade de Córdoba. A información procedía de cinco centros de investigación españois, entre eles o CIAM e o SERIDA nos que se efectuaron determinacións de dixestibilidade *in vivo* da materia orgánica de diversas mostras de alimentos, desde forraxes verdes e ensilaxes de zonas húmidas, até fenos e subprodutos mediterráneos, ascendendo a un total de 751 mostras. Na Táboa 7 se mostran os valores medios de composición química e de DMO *in vivo* da colección de mostras de forraxes

verdes, ensilaxes de herba e de millo e de fenos, utilizada para o desenvolvemento das ecuacións de predición.

Entre as actividades da Rede foron obtidas ecuacións de regresión para a predición de DMO *in vivo* por diversos métodos, incluíndo: a) ecuacións empíricas baseadas en compoñentes químicos determinados polo esquema de Weende e o fraccionamento Van Soest (1967), b) por diversos métodos de dixestibilidade con celulasa entre os que se contaban os métodos pepsina-celulasa (Aufrère, 1982; van der Meer, 1982) e fibra neutro deterxente-celulasa (Riveros e Argamentería, 1987), c) polo método de dixestibilidade *in vitro* con líquido ruminal (Tilley e Terry, 1963; Alexander e McGowan, 1966), d) polo método de degradabilidade ruminal *in situ* con bolsas de nailon (Ørskov e McDonald, 1979) e e) pola técnica de espectroscopía NIR (Shenk *et al*., 1977; Marten *et al*, 1985). Os modelos de regresión foron sometidos a análise de covarianza tendo en conta os posíbeis efectos fixos dos diferentes tipos de forraxes (verdes, ensilaxes, fenos, pallas e subprodutos), da familia botánica e do laboratorio na elaboración das regresións.

Táboa 7.- Valores medios de composición química e dixestibilidade *in vivo* da materia orgánica da colección de mostras de forraxes verdes, ensilaxes e fenos da Rede Española de Alimentación Animal (REDALAN) 2003-2006

Forraxes	MO	PB	FB	FND	FAD	LAD	DMO
Forraxes verdes (n=90)							
Media	88,6	16,2	29	54,3	33,9	4,4	69,5
SD	3,18	4,67	3,13	9,09	3,20	0,90	7,99
Rango	*(74-96)*	*(4-27)*	*(22-33)*	*(33-73)*	*(27-37)*	*(3-6)*	*(54-88)*
Ensilaxes de herba (n=150)							
Media	89,1	12,4	29,6	57,0	36,5	4,9	66,4
SD	4,26	3,32	4,39	8,15	4,65	2,19	7,80
Rango	*(68-96)*	*(6-22)*	*(19-40)*	*(34-80)*	*(25-49)*	*(2-11)*	*(47-79)*
Ensilaxes de millo (n=92)							
Media	96,1	6,7	22,9	44,1	25,3	2,3	68,7
SD	0,86	1,17	3,71	6,06	4,02	0,52	3,28
Rango	*(91-97)*	*(4-10)*	*(16-33)*	*(36-65)*	*(20-37)*	*(1-4)*	*(59-77)*
Fenos (n=111)							
Media	90,8	13,0	27,5	61,3	-	6,8	62,4
SD	2,22	4,65	3,20	8,60	-	2,36	5,80
Rango	*(86-96)*	*(4-23)*	*(23-33)*	*(42-75)*	-	*(3-12)*	*(51-76)*

SD: desviación estándar; MO: materia orgánica (%MS); PB: proteína bruta (%MS); FB: fibra bruta (%MS); FND: fibra neutro deterxente (%MS); FAD: fibra ácido deterxente (%MS); LAD: lignina ácido deterxente (%MS); DMO: dixestibilidade da materia orgánica (%)

Os resultados obtidos foron comparábeis aos reportados por outros autores, como por exemplo Barber *et al*. (1990) e De Boever *et al*. (1996). Como se pode observar na Táboa 8, a predición en función de compoñentes químicos foi a máis imprecisa, con valores en calibración para o mellor modelo, baseado en PB e FND, de 0,55 para o coeficiente de determinación R^2 e de ±4,8% para o erro estándar residual RSD. A estimación de DMO mediante as técnicas de solubilidade enzimática mostraron valores de R^2 entre 0,67 e 0,79 e de RSD de ±3,9 e ±4,2%, sendo observada unha importante influencia dos factores tipo de forraxe, familia botánica e laboratorio sobre os coeficientes das ecuacións. A ecuación que integraba a dixestibilidade *in vitro* con líquido ruminal como preditor mostrou un valor de R^2 = 0,78 e de RSD = ±3,9%, sendo tan preciso ou máis que os modelos baseados na solubilidade enzimática e presentando a avantaxe dunha total independencia dos factores tipo forraxe e familia botánica, pero requirindo a incorporación de mostras patrón para controlar a variabilidade entre distintas quendas de análises.

Táboa 8.- Mellores modelos de predición de DMO baseadas en compoñentes químicos obtidos para a colección de mostras de forraxes da Rede Española de Alimentación Animal (REDALAN) 2003-2006

Ecuación					R^2	RSD
Ecuacións universais						
(1) DMO = (83,5 + F_0) + (0,48 + F_1) PB + (F_2) FND					0,55	4,81
	Tipo forraxe	F_0	F_1	F_2		
	Ensilaxe	*0*	*0*	*-0,46*		
	Feno	*-20,6*	*0*	*0*		
	Forraxe verde	*0*	*0*	*-0,39*		
(2) DMO = (110,5 + F_1 + a_1) - (0,589 + F_2) FND - (0,901 + F_3) PB					0,63	4,85
	Tipo forraxe	F_1	F_2	F_3		
	Ensilaxe	-37,8	0,23	1,83		
	Feno	-34,3	0,25	1,63		
	Forraxe verde	-19,6	0,07	1,33		
	Familia	a_1				
	Gramíneas	1,11				
	Leguminosas	-11,7				
	Outras	0				
Forraxes verdes						
DMO = 94,8 - 0,60 FND + 0,0086 FND x PB					0,54	5,52
Ensilaxes						
DMO = 126,9 - 1,36 FND - 3,22 PB + 0,078 FND x PB					0,51	4,89

R^2: coeficiente de determinación; RSD: erro estándar residual; DMO: dixestibilidade da materia orgánica *in vivo*; PB: proteína bruta (%MS); FND: fibra neutro deterxente (%MS); F_0, F_1 e F_2: efecto do tipo de forraxe sobre o intercepto e os coeficientes dos preditores PB e FND; a_1: efecto da familia sobre o intercepto

As ecuacións coa degradabilidade ruminal *in situ* como preditor foron máis exactas que as dos métodos anteriores (R^2 = 0,84 e RSD = ±2,6%) se ben o número de observacións no que se basearon foi máis reducido e restrinxidas case exclusivamente a ensilaxes de

millo. As ecuacións NIRS mostraron, para o conxunto de calibración, valores de R^2 = 0,87 e SEC= ±2,5 a ±2,6% e en validación externa sobre un conxunto de mostras independentes o coeficiente de determinación r^2 foi de 0,79 e o erro estándar de predición (SEP) foi de ±3,0 a ±2,3%. A xulgar polo valor do ratio entre a desviación estándar do valor de DMO *in vivo* do conxunto de validación externa e o SEP, que foi de 2,08 a 2,44 en validación cruzada e de 2,09 a 2,61 en validación externa, se consideraron as ecuacións NIRS como as máis adecuadas para a estimación da DMO *in vivo* de forraxes, en base á maior exactitude e reproducibilidade das estimacións, así como á rapidez e o baixo custo das determinacións, ofrecendo un gran potencial para a colaboración entre laboratorios.

1.8 A caracterización proteica das forraxes

O nitróxeno é un elemento esencial para a produtividade dos cultivos e dos animais, sendo a súa utilización polos ruminantes relativamente ineficiente, cun valor aproximado de entre o 20 e o 50% do total de N inxerido (Tamminga, 1992), indicando Huhtanen e Hristov (2009) un rango de eficiencia do uso do N entre o 14% e o 45% para a produción de leite de vacún. A fracción de N inxerido non retido polo animal é excretado como urea e compostos orgánicos, sendo un importante contaminante ambiental que contribúe á contaminación da auga, ás emisións de gases de efecto invernadoiro e á formación de pequenas partículas na atmosfera cuxa inhalación causa problemas respiratorios nos humanos (Hristov *et al*., 2019). Actualmente entre os requirimentos da sociedade sobre os sistemas de produción figura a esixencia de modelos cada vez menos agresivos desde o punto de vista ambiental. A este respecto, dentro das estratexias propostas para mitigar o impacto medioambiental da agricultura, na UE se indica que a mellora na eficiencia do uso do N na produción animal representa unha das actuacións máis importantes para controlar a problemática do exceso de N na biosfera debido á acción humana (Sutton *et al*., 2011).

O factor determinante na minimización das emisións de N á atmosfera consiste no control sobre a excreción urinaria, dado que a urea, molécula precursora da síntese de NH_3, constitúe entre o 50% e 85% do N presente nos ouriños dos ruminantes (Dijkstra *et al.*, 2013). Se considera que o control sobre a excreción de N mediante o axuste da proteína da ración e a mellora da calidade da mesma resulta a estratexia máis eficiente para reducir os problemas potenciais de contaminación e mellorar ao mesmo tempo a eficiencia de uso

deste nutriente (Rotz, 2004; Huhtanen e Hristov, 2009). Neste sentido, Castillo *et al*. (2001) observaron que unha redución da PB na dieta, desde 19,0 a 15,0 %MS, conlevaba unha redución do 33% na excreción de N nos ouriños sen alterar a produción de leite e Frank e Swensson (2002) indicaron que as emisións de NH_3 en vacas de leite se reducían un 45% ao diminuír o contido en PB da dieta de 17,0 a 13,5 %MS. Noutro traballo, Olmos-Colmenero e Broderick (2006) indicaron un aumento lineal do N excretado nos ouriños de vacas leiteiras desde 25,4 a 36,5% cando o contido de PB na ración se incrementaba de 13,5 a 19,4 %MS, suxerindo un nível óptimo de PB na dieta no entorno do 16%, no que se acadaba a máxima produción coa mínima excreción de N ao medio. No traballo de Bougouin *et al*. (2016) onde se revisaron os efectos nutricionais e ambientais das emisións de N do gando estabulado, se observa unha elevada variación no contido en PB da ración consumida por vacas en lactación, desde 14,1 a 20,7 %MS, e unha correlación positiva (r=0,51) entre as emisións de NH_3 e o contido en PB da dieta.

A sobrealimentación en PB tamén reduce os marxes de beneficio debido ao custe relativamente alto dos suplementos proteínicos e a pobre eficiencia do uso de N polas vacas leiteiras alimentadas con dietas ricas en proteínas (Broderick, 2003), sendo de mencionar o estudo realizado en 64 explotacións leiteiras de Euskadi por Arriaga (2000) no que se observou que a sobrealimentación proteica era unha práctica común nas dietas destinadas ás vacas en lactación, onde case o 70% das racións excedía a inxestión de N por enriba dos requirimentos dos animais.

O avance no coñecemento dos procesos dixestivos e metabólicos da proteína inxerida polos ruminantes foi determinante para que se pasara de formular racións en base ao contido en proteína bruta dos alimentos a considerar o seu contido en proteína metabolizábel ou absorbida no intestino, o que esixe ter en conta o balance entre enerxía e proteína de cada ingrediente. Os sistemas actuais de formulación de alimentos para ruminantes utilizan esta estimación do valor proteico como base fundamental da valoración das achegas dos alimentos e das necesidades do animal (NRC, 2001; INRA, 2018). A mellora da sincronía ruminal dos aportes de enerxía e proteína permite reducir os custos de alimentación, mellorar o benestar animal en base á redución dos desequilibrios do funcionamento ruminal e diminuír a concentración de NH_3 no rume (Sniffen *et al*., 1992), diminuíndo a excreción de N ao medio, coa conseguinte redución do impacto ambiental da actividade gandeira.

O coñecemento preciso do valor nitroxenado das forraxes require dun sistema avanzado que informe con precisión do valor da dixestibilidade da materia orgánica, do contido en proteína e das características da súa degradabilidade ruminal. A cuantificación da degradabilidade da proteína dos alimentos no rume é un punto crítico nos sistemas de valoración nutritiva para ruminantes, xa que este valor condiciona a síntese de proteína microbiana e determina a fracción de proteína do alimento non degradada que escapa da fermentación no rume.

1.8.1 Medida *in situ* da degradabilidade ruminal

O método de referencia para determinar a degradabilidade ruminal é a técnica denominada *in situ* ou *in sacco*, que permite a determinación dos parámetros que describen a cinética da degradación ruminal e o cálculo da degradación efectiva das fraccións dos alimentos mediante a colocación de bolsas de nailon coas mostras a analizar no rume de vacas canuladas, sendo retiradas a diferentes tempos de incubación (Huhtanen *et al*., 2006a). O procedemento *in situ* é laborioso, longo e custoso, esixindo ademais dispor de animais modificados cirurxicamente, polo cal, alén doutros usos experimentais, esta técnica só se utiliza para formar coleccións de mostras de referencia a partir das cales se desenvolverán os métodos indirectos de predición das características de degradabilidade das forraxes e alimentos do gando en xeral.

O método (Ørskov e McDonald, 1979), basease na suposición de que a desaparición do substrato nas bolsas incubadas no rume representa a degradación real causada polos microorganismos ruminais e determina o alcance e a taxa de degradación. A desaparición das diferentes fraccións dos alimentos describe una curva exponencial crecente, onde o eixo de ordenadas representa a porcentaxe de material que desaparece das bolsas en cada tempo de incubación, tomando forma asintótica a tempos de incubación elevados. A curva se caracteriza por tres parámetros que definen a forma da mesma: unha fracción solúbel que se degrada total e instantaneamente ($\boldsymbol{a}$), outra fracción inicialmente insolúbel pero que se degrada máis lentamente ($\boldsymbol{b}$) a unha taxa ou velocidade de degradación determinada ($\boldsymbol{c}$), sen chegar na parte asintótica a acadar o 100% de degradación. O modelo matemático máis utilizado para describir a curva de degradación é o exponencial $P = a + b\ (1 - e^{-ct})$ de Ørskov e McDonald (1979) onde P é a cantidade degradada a un tempo t, mentres que $\boldsymbol{a}$, $\boldsymbol{b}$ e $\boldsymbol{c}$ son as constantes da ecuación exponencial. Combinado co valor estimado da taxa de paso das partículas desde o rume ao abomaso, pódese predicir o valor de degradabilidade

teórica ou efectiva das fraccións do alimento mediante a ecuación $\boldsymbol{DT} = a + \frac{bc}{c+k}$, onde k é a taxa de paso do alimento. O sistema de alimentación INRA (2018) propón, para estimar a degradabilidade teórica mediante o método *in situ*, utilizar un ritmo de paso fixo das partículas do 6 % cada hora (taxa de paso k=0,06 h^{-1}).

1.9 A Espectroscopía de reflectancia no infravermello cercano (NIRS)

1.9.1 Orixe e fundamento da tecnoloxía NIRS

O descubrimento da radiación infravermella foi realizado por Friedrich W. Herschel no ano 1800 mentres estudaba a cor responsábel da calor da luz solar, dentro do rango visíbel do espectro electromagnético. Dentro da rexión do infravermello é posíbel diferenciar distintas seccións en función do intervalo de lonxitudes de onda considerado. Así, a rexión espectral do infravermello cercano (NIR) é a sección da radiación infravermella máis próxima á visíbel, que abrangue desde os 780 ata os 2500 nm (Osborne *et al*., 1993).

O fundamento da tecnoloxía NIRS baséase na interacción que ten lugar entre a radiación electromagnética infravermella e a mostra a analizar, como consecuencia da cal se producen cambios no estado vibracional das moléculas. O espectro vibracional dunha molécula considerase unha propiedade física única presentando unha pegada espectral diferenciada (Workman e Shenk, 2004) sendo esta o resultado dos diferentes sobretonos, bandas de combinación e absorcións electrónicas de radiación dos grupos funcionais presentes nas moléculas dunha mostra (Shenk e Westerhaus, 1995a). Así, en función da natureza dos enlaces presentes nas súas moléculas, principalmente do tipo –CH, –NH, –OH e –CO, a absorción da radiación NIR será variábel, absorbendo unha determinada cantidade de radiación NIR (Shenk *et al*., 2001). Como indican Shenk e Westerhaus (1995a), os principais modos de vibración englóbanse, en 2 tipos: a) vibracións de tensión ou elongación (*stretching*), que reflicten os cambios na distancia interatómica ao longo do eixo do enlace e b) vibracións de flexión (*bending*) que son consecuencia de cambios no ángulo do enlace.

A forma máis usual de cuantificar a absorción de enerxía na rexión NIR é mediante a medida da enerxía reflectida. Esta exprésase en unidades de absorbancia (A), definida

como $A = \log(1/R)$, onde R son os valores da reflectancia ou cociente entre a radiación reflectida pola mostra e a radiación incidente sobre a mostra (Williams e Norris, 1987). Segundo a lei de Lambert-Beer, o valor da absorbancia resultante dunha mostra que conteña unha substancia con capacidade de absorber radiación NIR é directamente proporcional á concentración da sustancia que absorba dita radiación (Williams e Norris, 1987).

Un espectro NIR é unha representación gráfica dos valores de absorbancia obtidos ás diferentes lonxitudes de onda do rango espectral. A interpretación dun espectro NIR é complexa, debido a existencia de bandas de combinación e sobretonos para unha mesma molécula, provocando a superposición das mesmas. Por outra parte, o espectro pode estar sometido a presenza de outras fontes de erro que afectan aos datos espectrais: as relacionadas coa mostra (tamaño, forma e distribución das partículas, humidade e temperatura), co instrumento (relación sinal/ruído, precisión na lonxitude de onda, linearidade do sinal, tipo e tamaño de cápsula) e as operacionais (preparación da mostra) (Williams e Norris, 1987).

Karl Norris e colaboradores no Departamento de Agricultura dos Estados Unidos no ano 1964 desenvolveron a primeira aplicación da técnica NIRS para determinar o contido en humidade en graos de cereais (Ben-Gera e Norris, 1968). Anos máis tarde, Norris *et al*. (1976) publicaron o primeiro traballo da aplicación da tecnoloxía NIRS para predicir a composición química, inxestibilidade e dixestibilidade de forraxes, sendo a base na cal se estableceu un sistema computacional para investigadores sobre valor nutricional de forraxes no USDA (Givens *et al*., 1997).

Norris (1989) define a técnica NIRS como un método instrumental de análise para medir de forma rápida e repetíbel a composición química das mostras con pouca ou ningunha preparación previa das mesmas, estando dotada de catro avantaxes fundamentais: rapidez, simplicidade na preparación da mostra, multiplicidade de análises nunha soa operación e non destrución da mostra, que pode ser analizada de novo polo mesmo procedemento ou por outro diferente. Entre os inconvenientes principais se indicaban os requirimentos de instrumental, a dependencia de procedementos de calibración, a complexidade na elección do tratamento matemático dos datos e a falta de sensibilidade para constituíntes menores.

1.9.2 Instrumentación e modos de análise

A consolidación da instrumentación NIRS como técnica de análise alternativa aos métodos químicos e químico-biolóxicos tradicionais desde o último terzo do pasado século, foi impulsada polos avances tecnolóxicos instrumentais que permitiron o rexistro de espectros de forma fiábel e reproducíbel, polo desenvolvemento da informática e polas novas técnicas matemáticas e estatísticas para o tratamento dos datos espectrais e valores de referencia.

Os cambios máis relevantes nos instrumentos NIRS están relacionados coa mellora da relación sinal/ruído, a precisión na lonxitude de onda, a dispoñibilidade de diferentes sistemas de interacción da radiación coa mostra e a existencia dunha gran variedade de accesorios como cápsulas e cubetas de distintas formas, ben sexa en mostras extraídas do proceso (análises *off line* en laboratorio ou *at line* en instrumento próximo ao proceso) ou durante o proceso (análises *on line* e *in line*) (Flores-Rojas, 2009).

En paralelo aos avances enfocados na mellora da instrumentación, de especial relevancia foi a importante mellora dos programas informáticos para a obtención e tratamento dos espectros NIR e a posibilidade de clonación entre diferentes instrumentos para a transferencia de ecuacións ou modelos quimiométricos entre eles (Garrido *et al*., 1996; Garrido *et al*., 2003).

As compoñentes básicas dun instrumento NIRS son: una fonte de enerxía radiante, un dispositivo para a selección e dispersión das lonxitudes de onda, un compartimento para a presentación das mostras e uns detectores que converten a enerxía radiante nun sinal eléctrico e un procesador de sinal. Tras a incidencia da radiación sobre a mostra, a radiación reflectida a través da mostra é recollida polos detectores que a converten nun sinal eléctrico. Posteriormente, mediante un convertedor analóxico-dixital o sinal procedente dos detectores é amplificado e transformado nun sinal dixital, e por último, o sinal dixital é transmitido a un ordenador para o seu almacenamento e procesamento (Shenk e Westerhaus, 1995b).

Actualmente existe unha ampla variedade de instrumentos NIRS de varrido continuo, cada un con características particulares que determinan a súa aptitude para distintas aplicacións, facilidade de uso e custe. Se distinguen desde monocromadores que utilizan unha rede de difracción móbil (*grating*) para a selección de lonxitudes de onda até

equipos con tecnoloxías máis actuais, como os de rede de diodos (*diode array*, DA), os de transformada de Fourier (FT-NIR) ou os baseados na tecnoloxía MEMS, coñecida así polas súas siglas en inglés: *Micro-Electro-Mechanical System*.

A configuración básica destes elementos será diferente entre os instrumentos dependendo do carácter da radiación que use o equipo (Osborne *et al*., 1993). Os instrumentos NIRS permiten rexistrar o espectro tanto de mostras sólidas como líquidas ou gasosas, existindo gran variedade de accesorios para presentar a mostra ao instrumento. En función da natureza e tipo de produto existen catro modos principais de análises NIR: transmitancia, reflectancia, transflectancia e interactancia, determinados pola localización dos detectores con respecto á mostra (Shenk e Westerhaus, 1995b). As modalidades máis estendidas son a reflectancia e a transmitancia.

Un instrumento en modo reflectancia mide a reflectancia difusa e se utiliza principalmente para mostras sólidas e semisólidas, nas que a radiación NIR penetra unha certa distancia (normalmente uns mm), interactuando coas partículas e sendo selectivamente absorbida. A enerxía que non se absorbe é reflectida e pode ser cuantificada por detectores situados no mesmo plano que a mostra. A profundidade de penetración da luz dentro da mostra está determinada pola potencia da fonte (Groenewald e Köster, 2006). Cando o instrumento traballa en modo reflectancia, a mostra se empaqueta para que sexa o suficientemente opaca e a transmisión sexa cero (Murray, 1993).

O modo de transmitancia é usado para mostras líquidas, semilíquidas e sólidas. Neste caso, a radiación NIR atravesa a mostra, interactuando no seu camiño coas moléculas que a compoñen, sendo unha parte absorbida por elas. A enerxía que non é absorbida atravesa a mostra e é cuantificada polos detectores ubicados detrás da mostra, no lado oposto á fonte de radiación.

A modalidade transflectancia é a combinación das dúas anteriores. A radiación NIR atravesa a mostra até o fondo da cápsula ou cubeta, onde se sitúa unha superficie reflectinte (normalmente alumino ou ouro) que provoca a reflexión da radiación, de forma que se transmite outra vez a través da mostra, incidindo sobre os detectores (Osborne *et al*., 1993). Probablemente, debido a que esta modalidade de análise integra un fenómeno de transmisión por duplicado xunto cunha reflexión da radiación NIR, é polo que posteriormente Foss NIRSystems comezou a utilizar o termo *folded*

transmission (dobre transmisión). No caso da análise NIRS de produtos pastosos ou líquidos esta é a modalidade máis utilizada, debido a maior facilidade de enchido e limpeza das cápsulas en comparación con outras modalidades de análise.

Por último, o modo de interactancia se basea no uso de sondas de fibras ópticas concéntricas, onde a fonte de radiación (exterior da sonda) está separada do detector (interior da sonda), situándose ambos elementos en contacto coa superficie da mostra (Shenk e Westerhaus, 1995b). A incorporación aos instrumentos tradicionais de sondas con este modo de análise permitiu o desenvolvemento de estudos en mostras intactas e con diferentes volumes, de tal forma que se minimiza ou elimina o tempo de preparación de mostra (Fernández e Garrido, 2000) sendo posíbel obter os espectros das mostras directamente sobre elas, de tal forma que o tempo de preparación da mostra se elimina ou minimiza.

1.9.3 Quimiometría e a súa aplicación na tecnoloxía NIRS

Ademais dos avances instrumentais e do desenvolvemento dos ordenadores, o impulso definitivo para o avance da técnica NIRS foi a aplicación dunha nova modalidade de análise denominada quimiometría (Cozzolino *et al*., 2011a). A quimiometría é unha parte da ciencia química que se serve das matemáticas, da estatística e da lóxica formal para deseñar ou seleccionar procedementos experimentais óptimos e proporcionar información química relevante a partir da análise de sinais analíticos (Massart *et al*., 1997). A complexidade do sinal NIR fai imprescindíbel a utilización de técnicas quimiométricas que nos permitan interpretar, entender e modelar grandes conxuntos de datos.

Como se indicou anteriormente, a superposición das bandas de absorción dos diferentes constituíntes presentes na mostra, xunto coa grande cantidade de datos existentes e a elevada información redundante (colinealidade) provocan una baixa selectividade dos datos espectrais NIR (Shenk e Westerhaus, 1994), polo cal os procedementos univariantes para o tratamento da información NIRS non son suficientes (Osborne *et el*., 1993; Næs *et al*., 2002), sendo necesario recorrer a métodos de calibración multivariantes, é dicir, baseados na combinación das absorbancias a varias lonxitudes de onda que son analizados de forma simultánea (Næs *et al*., 2002). Estas ferramentas son consideradas fundamentais na obtención de información relevante a partir dos datos

espectrais, sendo o desenvolvemento e a evolución da tecnoloxía NIRS paralelos aos avances rexistrados en ditos campos (Shenk e Westerhaus, 1995b).

Nos datos espectrais adoitan aparecer con certa frecuencia perturbacións indesexábeis, comunmente coñecidas como ruído, que afectan de maneiras distintas á forma do espectro. O ruído pode ser debido ás compoñentes da instrumentación no rexistro do espectro (ruído instrumental), a variacións das condicións de temperatura ou humidade durante o proceso de recollida de espectros (ruído ambiental) ou debido a natureza da mostra. Os pretratamentos espectrais teñen como obxectivo principal corrixir o ruído presente nos datos espectrais (Rinnan *et al*., 2009; Cozzolino *et al*., 2011b). Existen múltiples técnicas de pretratamento espectral que son habitualmente combinadas secuencialmente coa finalidade de eliminar na maior medida posíbel as perturbacións espectrais e mellorar así a calidade dos resultados. Os pretratamentos máis usualmente utilizados para o desenvolvemento de aplicacións NIRS (Rinnan *et al*., 2009) son:

i. Promedio de espectros. O ruído instrumental é considerado de natureza aleatoria, polo que un promediado de varias sinais analíticas da mesma mostra diminúe o ruído aumentando a relación sinal/ruído.
ii. Suavizado espectral (*smoothing*). Este método é usado naqueles casos nos que o promediado de espectros non é suficiente (Stuart, 2004), existindo algoritmos matemáticos de suavizado que, aplicados ao espectro reducen o ruído, mellorando o aspecto visual do espectro sen eliminar información (Cozzolino *et al*., 2011b).
iii. Derivadas. Este tratamento é unha ferramenta fundamental para diminuír dous dos problemas básicos na espectroscopía NIRS, a superposición de picos de absorción e as variacións da liña base dos espectros (Shenk e Westerhaus, 1995b), sendo tamén un método moi usado para corrixir a radiación dispersa nos datos espectrais NIR (Næs *et al*., 2002). Normalmente se utilizan a primeira e segunda derivada. A primeira derivada elimina os desprazamentos da liña base constantes e a segunda derivada elimina os desprazamentos que varían linelamente coa lonxitude de onda (Osborne *et al*., 1993). Unha derivación se caracteriza pola amplitude ou distancia entre os segmentos a derivar e a lonxitude do segmento a ser suavizado. Os tamaños do segmento e da distancia deben ser optimizados en cada proceso de calibración, non existindo ningún tratamento matemático ideal para tódalas aplicacións.

iv. Centrado. Este método é un pretratamento habitual previo ao desenvolvemento dun modelo de calibración ou dunha análise de compoñentes principais. O centrado permite eliminar a preponderancia no modelo dunha variábel que presente unha gran variedade numérica fronte a outra variábel (Haaland e Thomas, 1988).

Un aspecto que repercute de maneira importante na baixa selectividade da información espectral NIR é a dispersión da radiación incidente, tamén denominado efecto *scatter* ou radiación dispersa (Osborne *et al*., 1993). Este feito, debido fundamentalmente a fenómenos físicos como a textura, o tamaño e a xeometría das partículas que conforman a mostra (Shenk *et al*., 1992), provocan numerosas variacións non desexadas nos datos espectrais NIR (Barnes *et al*., 1989; Næs *et al*., 2002). Para separar no espectro NIR os efectos destas variacións de orixe físico do efecto causado pola información química das mostras, existen numerosos métodos que se agrupan baixo o nome de tratamentos da corrección do efecto *scatter* ou radiación dispersa (Bertrand e Dufour, 2000).

Segundo Næs *et al*. (2002) os tratamentos máis comunmente utilizados na corrección da dispersión son: a transformación que estandariza e centra os datos de absorbancia de cada lonxitude de onda (SNV: *standard normal variate*), a corrección de efectos aditivos ou multiplicativos causados pola dispersión (MSC: *multiplicative scatter correction*) e a transformación para reducir os efectos de desprazamento da liña base e a modificación da pendente da curva espectral causada pola dispersión (D: *detrending*). Normalmente se utilizan combinacións de pretratamentos espectrais para mellorar a calidade dos resultados, como por exemplo SNV+D que permite eliminar en maior medida o ruído espectral respecto do uso individualizado de calquera dos métodos. Non tódolos pretratamentos conseguen reducir as interferencias causadas pola dispersión de forma simultánea, de modo que a selección do máis apropiado é puramente experimental, debendo ser avaliado en cada caso cales son os tratamentos máis axeitados para a corrección dos datos (Cozzolino *et al*., 2011b). En ocasións estas correccións poden non mellorar a exactitude das ecuacións NIRS, como indican Shenk e Westerhaus (1994) para a corrección do efecto do tamaño de partícula. Así, De la Roza *et al*. (1995) estudaron o efecto do pretratamento dos datos espectrais (ningún, SNV+D e W-MSC) e das derivadas (0, 1, 2 e 3) sobre os erros estándar dos modelos preditivos NIRS para estimar os valores de composición química de mostras de planta enteira de millo, sinalando a alta fiabilidade deste método con tal propósito e reportando que non

foi posíbel xeneralizar as condicións óptimas para a obtención dunha ecuación de regresión que minimice os erros para MS, PB, FND e dixestibilidade enzimática da materia orgánica.

1.9.4 Análise de compoñentes principais

O método máis utilizado como etapa inicial da análise multivariante, en paralelo aos pretratamentos espectrais, é a ACP ou Análise de Compoñentes Principais (Martens e Martens, 2001). A ACP é un algoritmo que permite realizar unha análise exploratoria dos datos espectrais coa finalidade de reducir a dimensionalidade da matriz de datos da poboación. A información espectral se simplifica a través do centrado da poboación, seguido do cálculo de distancias entre mostras (datos espectrais) nun espazo n-dimensional, a través xeralmente da distancia de Mahalanobis (Shenk e Westerhaus, 1995b,c). Por medio da ACP se obtén un número reducido de novas variábeis ortogonais, denominadas compoñentes principais (CP) que recollen a maior cantidade posíbel de varianza espectral da poboación orixinal, e que posúen as características de non estar correlacionadas. Cada CP contén información diferente e describe as fontes de variabilidade máis importantes do conxunto de mostras, de maneira que a primeira CP explica a maior porcentaxe de variabilidade que a seguinte e así sucesivamente. Como se citou anteriormente, os datos espectrais NIR presentan una grande cantidade de información redundante (colinealidade) a cal é eliminada ao transformar os datos espectrais orixinais en novas variábeis ortogonais (Martens e Martens, 2001; Næs *et al*., 2002).

1.9.5 Detección de mostras anómalas ou *outliers*

A detección de mostras espectralmente anómalas (*outliers*) é un punto critico no desenvolvemento de modelos de calibración NIRS, xa que poden influír na capacidade preditiva dos modelos obtidos. As mostras consideradas como anómalas espectrais son aqueles que presentan uns datos espectrais significativamente diferentes do resto do colectivo de mostras. O método máis utilizado para a detección de anómalos espectrais é o cálculo de distancia de Mahalanobis (1936) no espazo n-dimensional. Shenk e Westerhaus (1995b) desenvolveron o algoritmo "Center", incluído no paquete estatístico WinISI (Intrasoft International, Port Matilda, PA,USA) que permite calcular a distancia global estandarizada de Mahalanobis (GH) a partir da ACP dos datos

espectrais. Neste novo espazo vectorial, cada unha das mostras estará representada por un punto a partir das súas coordenadas (*scores*) sobre cada un dos eixos definidos polos compoñentes principais, sendolle asignada unha distancia GH ao centroide da poboación. As mostras con valores de GH>3 se consideran espectralmente anómalas (Shenk e Westerhaus, 1995b,c). Valores elevados de GH poden ser debidos, entre outros factores, a diferenzas extremas na composición da mostra ou unha diferente distribución no tamaño de partícula, entre outras razóns (Mark, 1991).

Por outra banda, no desenvolvemento de modelos de predición NIRS é importante detectar aquelas mostras que son anómalos químicos. O procedemento máis habitual para a súa detección basease no cálculo do estatístico T de Student, calculado como a diferenza entre o valor de referencia e o valor predito, sendo considerados anómalos químicos as mostras que presentan un valor de T > 2,5 (Mark e Workman, 2003).

Unha vez detectada a presenza de anómalos espectrais e/ou químicos, se debe realizar a interpretación das posíbeis causas que puideron provocar ditas diferenzas, repetindo, se é posíbel, o rexistro do espectro e a análise mediante o método de referencia sobre as mostras problema (Shenk e Westerhaus, 1995c; Næs *et al*., 2002). A detección, interpretación e posíbel eliminación destas mostras anómalas é unha etapa crítica no desenvolvemento de modelos de predición, debido a influencia que provoca a súa presenza nos resultados do modelo (Williams e Norris, 2001).

1.9.6 Análise cuantitativa

Baseada na Lei de Lambert-Beer, a análise cuantitativa é a máis estendida dentro das aplicacións da tecnoloxía NIRS (Hruschka, 2001), mediante a cal se establece unha relación lineal entre os valores de absorbancia do instrumento NIRS e os valores de concentración dun determinado analito, determinado mediante un método de referencia. Este proceso denomínase etapa de calibración, sendo a ecuación de calibración a relación matemática obtida como resultado, a traveso da cal é posíbel predicir o contido doutras mostras con características similares ás incluídas no colectivo de calibración (Shenk e Westerhaus, 1995c; Williams e Sobering, 1996).

Os métodos de regresión máis utilizados nas aplicacións cuantitativas NIRS son a Regresión Lineal Múltiple (MLR: *Multiple Lineal Regression*), a Regresión por Compoñentes Principais (PCR: *Principal Component Regression*), a Regresión

mediante Mínimos Cadrados Parciais (PLS: *Partial Least Squares Regression*) e a Regresión mediante Mínimos Cadrados Parciais Modificada (MPLS: *Modified Partial Least Squares Regression*), sendo estas dúas últimas as máis utilizadas en aplicacións agroalimentarias (Shenk e Westerhaus, 1996).

O método de regresión MPLS é unha variante do PLS e achega a vantaxe da estandarización, é dicir, cada dato de lonxitudes de onda ten o seu correspondente coeficiente e o seu peso depende da proporción de varianza do parámetro explicada pola lonxitude de onda. Os residuos NIR son estandarizados (divididos pola desviación estándar dos residuos en cada iteración) e mediante validación cruzada se minimiza o sobreaxuste (excesivo número de compoñentes) da ecuación de calibración (Shenk e Westerhaus, 1995b).

Unha etapa de gran importancia no desenvolvemento dunha ecuación de calibración NIRS é a selección de mostras que van a constituír o colectivo de calibración. De maneira xeral, canto maior sexa o número de mostras que constitúan a poboación de calibración, maior capacidade de predición presentará unha ecuación. Ademais do número, un aspecto clave é a variabilidade espectral e química que presenta a colección de mostras (Shenk e Westerhaus, 1995c e 1996). As mostras da poboación de calibración deben ser representativas de toda a variabilidade existente do produto a analizar, que posteriormente pode ser encontrada na análise de rutina de mostras futuras. As calibracións deben ser actualizadas periodicamente con novas mostras para recoller as fontes de variación impostas tanto polos novos xenotipos das especies cultivadas como pola modificación das condicións de medio e de manexo que puideran acontecer. Segundo Marten *et al*. (1989), idealmente cada ano as colección de mostras deberían ampliarse con novos valores de referencia coñecidos (10-12 mostras), para manter a robustez e a funcionalidade das calibracións obtidas inicialmente. A este respecto, numerosos autores indican que as características que definen á poboación de calibración utilizada determinan tanto a robustez como a exactitude das ecuacións desenvoltas (Shenk *et al*., 2001; Williams, 2001).

O valor preditivo das ecuacións de calibración tende a ser mellor cando se obteñen a partir de colección de mostras de semellante natureza ou tipo de produtos. Cando se desenvolven sobre poboacións heteroxéneas, procedentes de distintos produtos, a súa exactitude e precisión tenden a diminuír (Alomar e Fuchslocher, 1997). A recomendación xeral é construír poboacións de calibración específicas para cada tipo de

forraxe analizada. Sen embargo, na práctica, a cantidade de mostras dispoñíbeis nalgunhas categorías ás veces é insuficiente para desenvolver unha calibración específica, e algunhas mostras poden ser intermedias entre varias categorías. Un exemplo sería o caso dos pastos, nos que ao tratarse de mesturas multiespecies, é moi importante a construción de poboacións de calibración o máis extensas e variábeis que sexa posíbel (Bastianelli *et al*., 2018).

O tamaño óptimo que deben ter as bases de datos de calibración está suxeita a controversia. Shenk *et al*. (1976) indicaron que a resposta máis simple era utilizar tantas mostras como sexa posíbel para cubrir tódalas variábeis que poidan afectar á composición química e física da forraxe, suxerindo que, na práctica, sería necesario un número mínimo de 50 mostras no conxunto de calibración. Pola súa parte, Williams (1987) suxire un mínimo de 35 a 40 para calibracións simples, mentres que en outros casos se esixe un mínimo de 100 mostras. Shenk e Westerhaus (1993a) conclúen que cando se pretende analizar entidades químicas simples en produtos relativamente homoxéneos, por exemplo o contido en PB nos graos de cereais, 30 a 40 mostras cun rango de variación adecuado poden ser suficientes, pero se o obxectivo é predicir o mesmo parámetro en produtos máis heteroxéneos, como ensilaxes de herba, serán necesarias máis de 100 mostras. Neste sentido, Murray (1993) indica que é pouco probábel obter calibracións robustas para análise de forraxes se o número de mostras da colección é inferior a 100, a non ser que se pretenda predicir unicamente compoñentes simples como o contido en humidade e en PB. Windham *et al*. (1989) indican que o número mínimo de mostras necesarias para a predición de calquera parámetro de calidade das forraxes en poboacións pechadas sería de 50, en tanto que o número máximo requirido sería dependente do número de factores que afecten á variabilidade espectral da poboación, pero que raramente existe avantaxe de incrementar o número de mostras por riba de 250. Na Táboa 9 se indican os tamaños do colectivo de calibración utilizados por diversos autores no desenvolvemento de ecuacións NIRS para estimación do valor nutricional de forraxes.

Táboa 9.- Tamaño do conxunto de calibración utilizado por diversos autores para o desenvolvemento de modelos de predición NIRS

Parámetro a predicir	n	Características das mostras	Referencia
DMS *in vitro*	166	Alfalfa, diferentes cultivos e datas de colleita	Bertrand *et al*. (1987)
DMS *in vitro* e PB	140	Feno de pradeira, 4 especies, 6 anos, distinto estado de madurez e fertilización	Brown *et al*. (1990)
Composición química	60	Planta enteira de millo, 3 anos, 6 localidades, varios híbridos	Valdés *et al.* (1990)
PB e FAD	650	Feno, mostras de varios países, gramíneas, leguminosas e mesturas, varios métodos de secado	Shenk e Westerhaus (1991b)
Composición química	262	Graos de millo, mostras de espigas, alta humidade, varios métodos de secado	Shenk e Westerhaus (1991b)
Composición química e dixestibilidade	237	Herba, 4 anos, 5 localidades, diferente composición botánica e estado de madurez	García-Ciudad *et al*. (1993)

DMS: dixestibilidade da materia seca; PB: proteína bruta; FAD: fibra ácido deterxente

A forma de presentación da mostra ao instrumento tamén presenta unha especial relevancia. As ecuacións de predición NIRS tradicionais se basean en mostras secas e moídas compactadas en cápsulas dotadas cunha ventá de cuarzo. Noutras ocasións as mostras se presentan en estado húmido, picadas ou no seu estado orixinal, compactadas en cápsulas rectangulares. Diferentes autores demostraron que os resultados das análises NIRS sobre material non desecado son satisfactorios en canto á fiabilidade das predicións (por exemplo Abrams *et al*., 1988; Blosser *et al*., 1988; Reeves *et al*., 1991) aínda que en xeral os resultados de estimación da composición química son máis precisos se as análises se realizan sobre material seco e moído (Shenk *et al*., 1993). O secado e a moenda das mostras son procesos especialmente importantes debido ao feito de que a presenza de auga interfire no espectro NIRS, dado que absorbe parte da radiación infravermella, xerando dúas bandas de absorción moi significativas no espectro (1450 e 1930 nm), se ben nos últimos anos se reportan cada vez máis traballos con aplicacións en produtos frescos intactos (Bastianelli *et al*., 2018) debido á simplificación do método de preparación da mostra. Outro aspecto importante a ter en conta é que as mostras de forraxes e mesturas completas presentadas ao aparato en modo intacto están constituídas por un material moi heteroxéneo, de diferentes fraccións e tamaños, dando lugar a variacións na liña base do espectro (Givens *et al*., 1997). Esta limitación inténtase paliar co incremento da dimensión da área de mostra exposta á irradiación.

As condicións baixo as que se rexistra o espectro das mostras deben ser o máis uniformes posíbeis toda vez que a temperatura afecta en gran medida á análise

espectroscópica, modificando a expresión dos picos de absorción e posibelmente alterando a interpretación do espectro das mesmas mostras (Stuth *et al*., 2003). A recollida de información espectral en instrumentos de laboratorio require habitualmente ser realizada baixo condicións controladas de temperatura da sala onde se encontre ubicado o instrumento NIRS (aprox. 24ºC).

Os erros asociados coa tecnoloxía NIRS dependen fundamentalmente do método de referencia e dos erros de mostraxe (Williams e Norris, 1987), sendo definido o erro de estimación como a diferenza entre o valor predito e o valor determinado polo método de referencia. Mentres que a compoñente sistemática dos erros analíticos pode ser minimizada pola execución minuciosa dos pasos do procedemento, a parte aleatoria non é doadamente controlábel. O coñecemento do erro asociado ao método de referencia é clave na avaliación dos modelos de predición NIRS obtidos (Beever e Mould, 2000).

Os métodos de referencia usados na análise das mostras das coleccións que serán obxecto de desenvolvemento de ecuacións NIRS deben ser de alta precisión e exactitude para que o modelo preditivo sexa de utilidade. A precisión ou repetibilidade dunha análise NIRS é a concordancia entre sucesivos rexistros do espectro da mostra contida na cápsula (Williams, 1987), debendo haber a seguridade de que o rexistro de espectros foi efectuado exactamente sobre a mesma mostra que foi analizada por métodos de referencia, dado que variacións na composición da mesma afectarán os resultados do método analítico primario e a fiabilidade das calibracións, para o cal a proceso de homoxeneización da mostra é fundamental.

A repetibilidade dunha medida expresa a proximidade dos resultados obtidos coa mesma mostra, usando o mesmo procedemento, os mesmos operadores e o mesmo laboratorio nun curto período de tempo, polo xeral un día ou unha serie. A repetibilidade dará o valor máis baixo de variación nos resultados e se expresa como desviación estándar, varianza ou coeficiente de variación. A precisión intermedia ou reproducibilidade intra-laboratorio é a predición obtida no mesmo laboratorio durante un longo período de tempo e inclúe diversas fontes de variación como analistas, series, etc. que producen unha variación aleatoria. O valor da precisión intermedia é maior que a repetibilidade, expresada da mesma forma. A reproducibilidade (a veces denominada reproducibilidade inter-laboratorios), expresa a precisión entre medidas realizadas en diferentes laboratorios (De la Roza *et al*., 2015).

Galyean (2010) indican que para o mesmo laboratorio, se considera como aceptábel unha reproducibilidade das determinacións máis usuais, medidas como o coeficiente de variación entre repeticións (CV %), de 0,5 para MS, de 2,0 para CZ, PB e FB, de 3,0 para FAD e FND e de 4,0 para LAD, EE e dixestibilidade da MS *in vitro* (Táboa 10).

A fiabilidade das análises NIRS debe ser contemplada en relación ao erros na mostraxe e no laboratorio. Windham *et al.* (1989) indica que o erro estándar de laboratorio (SEL) vén dado pola varianza entre replicados analizados polo método de referencia e se define como $SEL = \sqrt{\frac{\sum(Varianzas\ de\ replicados)}{n}}$ para un conxunto de n mostras. Dryden (2003a) estima que os erros estándar de predición do NIRS deben ser, de forma xeral, inferiores ao duplo do valor dos erros estándar dos métodos de referencia.

Táboa 10.- Precisión esperada en determinacións de laboratorio para determinar o valor nutricional de forraxes

Parámetro	Rango de valores (mínimo-máximo)	Coeficiente de variación aceptábel (%)
Humidade residual (%)	80-100	0,5
Cinzas (% MS)	0-20	2,0
Proteína bruta (%MS)	5-50	2,0
Fibra bruta (%MS)	5-50	2,0
Fibra ácido deterxente (%MS)	5-70	3,0
Fibra neutro deterxente (%MS)	10-80	3,0
Lignina ácido deterxente (%MS)	0-20	4,0
Extracto etéreo (%MS)	1-20	4,0
DMO *in vitro* Tilley-Terry (%)	20-80	4,0

MS: materia seca; DMO: dixestibilidade da materia orgánica; Fonte: Galyean (2010)

1.9.7 Selección do modelo de calibración

O comportamento do modelo de calibración se avalía inicialmente mediante un proceso de validación cruzada, mediante o cal se desenvolven diferentes ecuacións, procedéndose a escoller aquela que mostra un valor medio máis alto de varianza explicada polo modelo e un valor máis baixo do erro estándar de predición en validación cruzada (Stone, 1974). No proceso de validación cruzada se eliminan secuencialmente mostras ou grupos de mostras do colectivo de calibración que, unha vez construída a ecuación de regresión coas mostras restantes, son utilizadas para a súa validación. Nesta fase a validación se realiza en base ás mostras ou grupos de mostras do conxunto de calibración, sen recorrer a mostras independentes. O procedemento é repetido até que tódalas mostras ou grupos foron utilizadas unha vez para realizar a

validación. Este procedemento ademais prevén o sobreaxuste do modelo (Shenk e Westerhaus, 1995b; Williams e Norris, 2001).

Un estimador da capacidade preditiva da ecuación é o propio erro estándar de calibración (SEC) do modelo desenvolvido definido como a desviación típica dos residuos (diferenza entre os valores observados cando se aplicou o método de referencia e os valores preditos pola ecuación) para o colectivo de calibración (Williams, 2001), que se complementa co erro estándar de validación cruzada ($SECV$), obtido a partir da diferenza entre os valores observados e os preditos en cada secuencia de validación. O valor do SEC, ao ser unicamente un estimador do erro do modelo quimiométrico utilizado, adoita sobreestimar a capacidade real de predición dunha ecuación NIRS (Shenk e Westerhaus, 1995c).

Os estatísticos máis adecuados para avaliar as ecuacións de calibración se basean na validación sobre un conxunto de mostras independentes. Os estatísticos das regresións obtidas sobre o conxunto de calibración proporcionan información adicional e poden ser os únicos criterios de calidade dispoñíbel para xulgar o comportamento preditivo das ecuacións cando non se dispón de suficientes mostras para formar un conxunto de validación independente (Westerhaus, 1989). No proceso de validación externa se avalía a capacidade preditiva do modelo de calibración e implica a aplicación do modelo nun conxunto de mostras diferente ás utilizadas na súa construción, ben procedentes dunha poboación diferente, con valores de referencia coñecidos, ou ben mediante a eliminación dun certo número de mostras do conxunto de calibración, que non son usadas para a construción do modelo e sobre as que se proba a súa validez. Este método de validación se considera como o mellor estimador e máis simple da capacidade preditiva dunha ecuación NIRS (Shenk e Westerhaus, 1996).

1.9.8 Avaliación da capacidade preditiva do modelo de calibración

A norma ISO 5725-1 utiliza o termo exactitude para describir a proximidade dunha medición ao seu verdadeiro valor. Cando temos varias medidas repetidas dun parámetro existirá unha fonte de erro sistemático e unha fonte de erro aleatorio. Neste caso a exactitude comprende a veracidade da medición ou proximidade da media das determinacións respecto do verdadeiro valor do parámetro e a precisión ou a dispersión do grupo de resultados. Un termo equivalente a exactitude, neste sentido, sería o da bondade ou fiabilidade das ecuacións de predición.

En terminoloxía NIRS a exactitude mide cánto de cerca están os valores preditos por NIRS dos valores de referencia no conxunto de validación. Se expresa como a desviación estándar das diferenzas entre os valores preditos e os de referencia, e polo xeral se atopan tres categorías ao respecto. En primeiro lugar temos as predicións de entidades químicas simples (p. ex.: PB e humidade) que se realizan con alta fiabilidade na maior parte dos produtos agrícolas, incluídas as forraxes. Unha segunda categoría se refire á predición de parámetros menos definidos quimicamente, que se determinan por métodos de referencia máis complexos que requiren pasos de filtrado, secado e lavado e onde os erros no procedemento son maiores, como é o caso das determinacións de fibra, o que conduce a predicións NIRS menos exactas. Finalmente, a menor fiabilidade se produce cando se estiman constituíntes que non absorben enerxía, como e o caso dos minerais, ou cando o obxecto da predición son características ou propiedades das mostras nas que interveñen factores ligados á composición química e o procesado do material e ao seu consumo polo animal, como e o caso da predición da inxestibilidade, da dixestibilidade ou do valor enerxético dos alimentos.

Os estatísticos máis empregados na construción e avaliación da capacidade preditiva das ecuacións de calibración NIRS son os seguintes:

- Coeficiente de determinación da calibración (R^2) que mide a bondade de axuste do modelo de regresión utilizado no conxunto de calibración, indicando a porcentaxe de variabilidade do parámetro a predicir explicada polo modelo.

- Erro estándar de calibración (SEC), que estima a variabilidade das diferenzas entre os valores preditos pola ecuación e os valores de referencia do conxunto de calibración. É equivalente ao erro estándar da regresión múltiple e se calcula como $SEC = \sqrt{\frac{\sum(Xi-Yi)^2}{(n-p-1)}}$ onde Xi é o valor determinado polo método de referencia, Yi é o valor determinado por NIRS, n é o número de mostras e p é o número de termos da ecuación de calibración. Se as estimacións NIRS e o proceso de calibración estivesen libres de erro, SEC sería igual ao erro estándar de laboratorio (SEL) da variábel obxecto de calibración, recomendándose seleccionar ecuacións nas que SEC sexa aproximadamente 2 veces o valor de SEL (Westerhaus, 1989).

- Coeficiente de determinación da validación cruzada (R^2_{cv}) que representa a porcentaxe de varianza existente no grupo de validación cruzada que é explicada polo modelo para o parámetro estudado, expresado habitualmente como $1 - VR$. Seguindo a Shenk e

Westerhaus (1996) e Shenk *et al*. (2001) os criterios de interpretación deste parámetro se reproducen na Táboa 11, onde se observa que valores de $1 - VR$ superiores a 0,70 permiten realizar unha predición cuantitativa. Como indica Fearn (2014), unha das principais limitacións deste estatístico é a súa dependencia do rango de valores e da desviación estándar dos valores de referencia do conxunto de calibración. Fearn (2014) e Dardenne (2010) demostraron que o estatístico RPD é igual a $\frac{1}{\sqrt{1-R^2_{cv}}}$ e depende por tanto na mesma medida que o coeficiente de determinación do rango dos datos na calibración, que normalmente fará que valores altos de $1 - VR$ se asocien a valores de RPD en validación cruzada tamén elevados e viceversa.

Táboa 11.- Criterio de interpretación do parámetro coeficiente de determinación da validación cruzada ($1 - VR$)

Valor de $1 - VR$	Calidade da calibración	Utilidade
$1 - VR \geq 0{,}90$	Excelente	Análise cuantitativo
$0{,}70 \leq 1 - VR < 0{,}90$	Boa	Análise cuantitativo
$0{,}50 \leq 1 - VR < 0{,}70$	Mediocre	Clasificación en rangos (alto, medio e baixo)
$1 - VR < 0{,}50$	Mala	Sen utilidade

Fonte: Shenk e Westerhaus (1996) e Shenk *et al.* (2001)

- Erro estándar de validación cruzada ($SECV$), calculado a partir da raíz cadrada do promedio dos cadrados dos residuos (diferenza entre os valores preditos pola ecuación de regresión e os valores de referencia) en cada pase de validación cruzada. O procedemento de validación cruzada utilizado polo Software WinISI selecciona o número de factores ou termos do modelo que minimizan o valor de $SECV$ e posteriormente re-calcula a ecuación contendo ese número de factores ou variábeis fundamentais.

- Erro estándar de predición (SEP), calculado ao igual que $SECV$ para o conxunto de validación externa, é un verdadeiro indicador da calidade da ecuación na predición de mostras diferentes, indicando a robustez da mesma. Windham *et al*. (1989) indican que se o SEP en validación externa é aproximadamente 2 veces o valor de SEL, a ecuación NIRS pode ser aceptada para o seu uso e o SEP pode ser usado como unha indicación fiábel da exactitude da ecuación na predición de futuras mostras.

- *Ratio* de predición a desviación (RPD), que mide a relación entre a desviación estándar (SD) do conxunto de mostras para o valor de referencia e o erro estándar de validación cruzada ou de predición ($RPD = SD_{cv}/SECV$ ou $RPD = SD_v/SEP$).

Sinnaeve *et al.* (1994) e Williams e Sobering (1996) suxiren que valores de RPD>2,5 indican que a ecuación é válida para realizar unha clasificación cualitativa, e que valores de RPD>3 indican que a ecuación pode ser utilizada para análises cuantitativas, mentres que valores maiores de 10 se consideran equivalentes aos do método de referencia. Pola súa parte, Saeys *et al*. (2005) indican que modelos con valores de RPD<1,5 presentan baixa capacidade preditiva e non son de utilidade; se o valor RPD está entre 1,5 e 2,0 a predición se considera aceptábel; para valores de RPD entre 2,5 e 3,0 a predición é de boa calidade e para os modelos con valor RPD> 3,0 a predición se considera excelente.

- *Ratio* do rango a erro (RER) que cuantifica a relación entre o rango de valores de referencia e o erro estándar de validación cruzada ou de predición ($RER = Rango_{vc}/SECV$ ou $RER = Rango_{ve}/SEP$). Os valores de RER son aproximadamente de catro a cinco veces superiores aos de RPD, pero a relación exacta dependerá da distribución de mostras no conxunto de validación (Fearn, 2002). Para cualificar este parámetro Millmier *et al*. (2000) indican catro níveis de calidade na predición, que se indican na Táboa 12 e subliñan a importancia de revisar a presenza de mostras anómalas, xa que o valor do RER é moi sensíbel á súa presenza, podendo resultar en valores elevados que non representan realmente a exactitude da predición. En xeral se admite que os valores de RER das calibracións con boa capacidade preditiva deben ser superiores a 10 (Williams e Sobering, 1996; Williams, 2001).

Os valores de SEC e $SECV$ non poden ser comparados en termos absolutos, dado que dependen do valor medio do parámetro a predicir, polo cal os estatísticos SEP e RER permiten a estandarización dos erros de predición e a comparación dos resultados cos obtidos por outros autores que utilizaron diferentes conxuntos de datos (Williams, 2001).

Táboa 12.- Calidade da predición das ecuacións NIRS en función do parámetro *RER*

Valor de *RER*	Calidade da calibración	Utilidade
$RER \leq 4{,}0$	Mala	Sen utilidade
$4{,}0 < RER \leq 8{,}0$	Mediocre	Clasificación en rangos (alto, medio e baixo)
$8{,}0 < RER \leq 12{,}0$	Aceptábel	Predición cuantitativa
$RER > 12{,}0$	Boa	Predición cuantitativa

Fonte: Millmier *et al*. (2000)

As indicacións doutros autores sobre os criterios de calidade das ecuacións non son sempre coincidentes. Williams (2001) establece o rango de valores para os estatísticos

RPD e RER que se indican na Táboa 13, claramente máis exixentes que os anteriores, mentres que Hayes (2011) sinala, como criterios de calidade das predicións NIRS para a análise de material lignocelulósico, que valores de $RER \geq 4{,}0$ indican que a calibración é adecuada para una clasificación preliminar, mentres que un valor $RER \geq 10$ indica que a calibración é aceptábel para control de calidade e un valor $RER \geq 15$ indica que a calibración pode ser usada para análise cuantitativo. Coincidindo co indicado por Williams (2001), cando se utiliza de forma alternativa o estatístico RPD, valores $\geq 2{,}5$ permitirían utilizar a ecuación para clasificación en programas de mellora, valores $RPD \geq 5$ indicarían que a calibración é adecuada para control de calidade, mentres que valores $RPD \geq 8$ mostrarían que a calibración é de utilidade para o control de procesos e investigación aplicada.

Táboa 13.- Clasificación de valores dos estatísticos de RPD e RER nas calibracións NIRS para o control de produtos e procesos

RPD	RER	Clasificación	Aplicación
0-2,3	<6	Moi pobre	Non recomendada
2,4-3	7-12	Pobre	Clasificación grosera
3,1-4,9	13-20	Pasábel	Clasificación
5,0-6,4	21-30	Boa	Control de calidade
6,5-8,0	31-40	Moi boa	Control de proceso
>8,0	>41	Excelente	Calquera aplicación

Fonte: Williams (2001)

Outro estatístico de uso tradicional en química analítica e de utilidade para a interpretación de datos NIRS é o coeficiente de variación (CV), calculado como a proporción que representa o erro estándar de predición e a media ($\bar{Y}$) dos valores de referencia ($SECV\ x\ 100/\bar{Y}_{cv}$ ou $SEP\ x100/\bar{Y}_{v}$). O tamaño e interpretación dos CV depende parcialmente da fonte dos datos e do parámetro a analizar, indicándose na Táboa 14 os criterios de interpretación deste valor para as análises de referencia e as predicións NIRS (Williams, 2001).

Táboa 14.- Criterios de interpretación dos valores do coeficiente de variación en relación co control NIRS de produtos e procesos

CV (%)	Análises de referencia	Predición NIRS de parámetros	
		Químicos	Funcionais
≤0,5	Excepcional	Imposíbel de obter	Imposíbel de obter
0,6-1,0	Excelente	Excepcional	Imposíbel de obter
1,1-2,0	Moi bo	Excelente	Excepcional
2,1-3,0	Bo	Moi bo	Excelente
3,1-4,0	Pasábel	Bo	Moi bo
4,1-5,0	Mediocre	Pasábel	Bo
>5,0	Necesita investigación	Mediocre	Pasábel

CV: coeficiente de variación; Fonte: Williams (2001)

Os criterios de Windham *et al.* (1989) indican que a pendente da regresión entre os valores observados e preditos debe ter un valor próximo á unidade, estando os valores razoabelmente distribuídos no entorno da liña $y = x$. Por outra banda, se debe estudar a relación entre o erro estándar de predición SEP e o valor de SEP corrixido por $bias$ ($SEPc$). Calculado como $SEPc = \sqrt{\frac{\Sigma(\hat{y}-y-bi\quad)^2}{n-1}}$, este valor indica o comportamento da ecuación corrixida pola diferenza entre a media dos valores NIRS e a dos valores de referencia ($bias = \frac{\Sigma(\hat{y}-y)}{n}$). O desprazamento da liña de regresión que relaciona NIRS cos valores de referencia respecto da recta $y = x$ pode ser debido a un cambio na preparación da mostra ou no procesado do método de referencia ou no instrumento desde a calibración. Sen embargo, se o valor do $bias$ é constante ao longo de $y = x$ e o valor de SEPc é substancialmente menor que SEP para as mostras de validación e está dentro do rango de 2 veces o valor de SEL para o método de referencia, a ecuación NIRS pode ser usada unha vez corrixido o $bias$ (Windham *et al*., 1989).

1.9.9 Estandarización de instrumentos e transferencia de calibracións

A consecución dun modelo de calibración robusto require de esforzo, gasto económico e tempo. Polo tanto, os modelos de predición NIRS nestas condicións posúen un elevado valor científico e económico, sendo desexábel polo xeral utilizalos noutros instrumentos localizados no mesmo ou en diferentes emprazamentos. Actualmente, a pesar dos grandes avances instrumentais acontecidos nos últimos anos, existen diferenzas entre instrumentos debido a existencia de pequenas diferenzas derivadas da configuración ou da óptica dos instrumentos, e imposibilitan a transferencia directa de ecuacións NIRS entre eles, mesmo que se trate de aparatos do mesmo fabricante e

modelo (Shenk *et al.*, 2001). Polo tanto, é necesario realizar diferentes axustes (estandarización ou clonación) previos á transferencia entre instrumentos NIRS, para que o modelo proporcione resultados precisos (Bergman *et al*., 2006).

Tradicionalmente, dito axuste consistía na corrección da pendente e/ou $bias$ das ecuacións a cada equipo "satélite" (instrumento ao que desexa transferir as ecuación) en particular mediante axuste de coeficientes e lonxitudes de onda. Este procedemento considerase tedioso, resolvendo o problema só de maneira transitoria, e imposibilita a transferencia de espectros entre instrumentos para realizar calibracións comúns (Dardenne *et al*., 1992).

Posteriormente, durante a 3ª Conferencia Internacional NIRS celebrada en Bélxica no ano 1990, Shenk e Westerhaus presentaron un procedemento que permita levar a cabo a corrección das diferenzas existentes entre espectros das mesmas mostras obtidos en instrumentos diferentes. Este procedemento, denominado estandarización ou clonación de instrumentos, basease na utilización dun "set de mostras universais" composto por 30 mostras de diferentes produtos agrícolas (cereais, alimentos proteicos, forraxes, subprodutos, etc.), as cales se encontran incluídas en cápsulas seladas para evitar alteracións (Shenk, 1990). Este método, patentado por Shenk e Westerhaus (1989) realiza unha corrección univariante do espectro completo mediante dúas etapas independentes. Una primeira etapa de corrección das lonxitudes de onda e unha segunda de corrección dos valores de absorbancias (Shenk e Westerhaus, 1989). O proceso de clonación require obter os espectros destas mostras seladas no instrumento onde as ecuacións de calibración se desenvolveron (instrumento Master) así como no instrumento onde se desexa transferir ditas ecuacións (instrumento Satélite). Mediante o uso das citadas cápsulas seladas, se asegura que ambos instrumentos obteñen idénticos espectros da mesma mostra, e as diferenzas encontradas son debidas a diferenzas instrumentais. Unha vez realizado o proceso de estandarización, as ecuacións desenvolvidas nun aparato serían válidas noutro, se ben en ocasións é necesario realizar algún axuste posterior de pendente e do $bias$.

1.9.10 Monitorización da validez das ecuacións NIRS

Despois de finalizar o proceso de construción e validación dunha ecuación NIRS, durante o uso en rutina da mesma, é necesario facer comprobacións para asegurar a exactitude dos resultados obtidos sobre novas mostras. A posibilidade de cambios no

funcionamento do aparato así como, en particular, a aplicación da ecuación a mostras non representadas na colección de calibración son causas da perda de calidade nas predicións. Valores altos do estatístico GH en mostras individuais indican falta de exactitude na estimación NIRS, indicando Westerhaus (1989) que se durante o uso en rutina da calibración NIRS o valor medio de GH das mostras problema analizadas é superior a 3,0, a ecuación deberá ser recalibrada incorporando a variabilidade da nova poboación.

Un método práctico para probar se unha ecuación é apropiada para unha nova poboación de mostras é determinar intervalos de confianza ao 90% para o $bias$ e o $SEPc$ obtidos ao aplicar a ecuación á nova poboación. Shenk *et al*. (1989) indican que o $bias$ debe estar dentro do intervalo ±0,65 SEC e que o valor do $SEPc$ debe estar dentro do intervalo ±1,30 SEC, en tanto que as ecuacións con valores de $bias$ superiores a SEC e de valores $SEPc$ superiores a 2 veces SEC non son dunha calidade aceptábel para a predición de mostras externas.

En forraxes pode ser importante ter en conta o efecto do ano en que se recolleron as mostras na aplicabilidade do modelo de calibración a mostras diferentes. Cando as ecuacións de predición se obteñen a partir de coleccións de mostras recollidas durante un espazo temporal dun único ano e son aplicadas a mostras doutro ano diferente, os coeficientes de correlación son polo xeral máis baixos e os erros estándar das predicións son máis altos que cando as predicións se circunscriben a mostras do mesmo ano (Blosser *et al*., 1988). A ecuación se mellora substancialmente cando se engade un número limitado de mostras da nova poboación á calibración existente.

1.10 Utilización da tecnoloxía NIRS para a caracterización dos alimentos para o gando

A potencialidade do método NIRS para a determinación fiábel e rápida da calidade da forraxe é coñecida desde o século pasado. Desde a súa primeira aplicación para estimar a humidade dos grans de cereais en 1960, en pouco tempo se desenvolveu a aplicación da tecnoloxía NIRS para estimar o valor nutricional de forraxes (Norris *et al.*, 1976). Desde entón a técnica NIRS é usada para analizar de forma precisa a composición química e determinados parámetros do valor nutricional das forraxes de forma rápida,

non destrutiva e económica, evitando os problemas de manipulación e reciclaxe de reactivos, sendo por tanto un método seguro para o persoal operador (Mark *et al*., 2002).

Aínda que inicialmente o alto custo dos dispositivos e as limitacións de ferramentas informáticas asociadas limitaron a expansión desta tecnoloxía, a súa relevancia é cada vez máis importante. O desenvolvemento de calibracións para estimar a composición química de forraxes e alimentos, está ao alcance de laboratorios que dispoñan da tecnoloxía de análise por vía húmida tradicional, mentres que a construción e mantemento de calibracións para estimación da dixestibilidade e da degradabilidade ruminal está reservado a institucións que teñan capacidade de obter as coleccións de mostras avaliadas *in vivo* e *in situ* que se necesitan para desenvolver calibracións NIRS.

1.10.1 Predición de compoñentes químicos

O contido en PB, FND, FAD e carbohidratos non estruturais e solúbeis en auga (CNET e CSA) son os parámetros de calidade nutricional máis importante que determinan a inxestión e dixestibilidade polo gando (Van Soest *et al*., 1991). Unha vez debidamente calibrado, a tecnoloxía NIRS permite a predición da composición química de compostos orgánicos das forraxes con aceptábel exactitude e precisión. As estimacións para PB están asociadas polo xeral con valores de R^2>0,90, mentres que os constituíntes da parede celular (FND, FAD, LAD) son preditos de forma lixeiramente menos fiábel (Dryden, 2003a). Por outra banda, a técnica NIRS parece ser tan precisa como os métodos convencionais de análise da composición química das forraxes. Estas características fan ao NIRS un aceptábel método analítico alternativo ao alcance dos laboratorios que teñan capacidade de realizar as análises de referencia necesarias para a construción e validación das calibracións. A modo de exemplo, na Táboa 15 se indican os estatísticos de calibración e validación de ecuacións NIRS para estimación da composición química de forraxes, que foron tomados de diversos traballos de referencia realizados neste área de estudos.

Táboa 15.- Comparación da calidade preditiva de parámetros químicos de distintas forraxes mediante NIRS en mostras secas e moídas

Tipo de forraxe	Parámetro	Calibración		Validación		*SD*	*RER*	*RPD*	Referencia
		R^2	*SECV*	r^2	*SEP*				
Ensilaxes, xeral	PB	0,98	-	-	1,07	5,98	-	5,59	Norris *et al.* (1976)
	FAD	0,92	-	-	2,50	5,60	-	2,24	
Alfalfa	PB	0,98	-	-	0,42	-	-	-	Marten *et al.* (1984)
	FAD	0,94	-	-	1,30	-	-	-	
	FND	0,95	-	-	1,46	-	-	-	
Fenos de gramíneas e leguminosas	CZ	0,84	0,80	0,64	1,20	2,00	5,00	1,67	Redsaw *et al.* (1986)
	PB	0,90	1,00	0,95	1,00	3,30	12,80	3,30	
	FAD	0,88	2,00	0,71	2,20	4,00	6,91	1,82	
	FND	0,88	3,30	0,90	2,90	9,20	11,79	3,17	
	LAD	0,83	0,90	0,50	1,10	1,50	5,27	1,36	
Cana e follas de millo	FAD	0,90	1,38	0,94	1,43	5,69	-	3,98	Zimmer *et al.* (1990)
	FND	0,92	1,71	0,95	1,78	7,72	-	4,34	
	LAD	0,78	0,43	0,77	0,42	0,82	-	1,95	
Grao de millo	PB	0,96	-	-	0,29	-	-	-	Melchinger *et al.* (1986)
	FB	0,90	-	-	0,25	-	-	-	
	ALM	0,94	-	-	1,29	-	-	-	
	CSA	0,73	-	-	0,59	-	-	-	
Planta enteira de millo	PB	0,97	-	0,80	0,50	-	9,80	-	Valdés *et al.* (1990)
	FAD	0,98	-	0,88	1,60	-	15,50	-	
Ensilaxes, xeral	PB	0,99	-	0,99	0,36	2,70	-	4,43	Reeves e Blosser (1991)
	FAD	0,96	-	0,96	1,48	5,40	-	3,65	
Pastos mixtos	FND	0,95	-	-	2,17	-	18,89	-	Smith e Flinn (1991)
	PB	0,97	-	-	0,85	-	25,18	-	
Pastos mixtos	PB	0,95	0,57	0,93	0,90	-	11,78	-	García-Ciudad *et al.* (1993)
	FAD	0,87	1,42	0,85	1,56	-	9,87	-	
	FND	0,93	2,06	0,92	2,37	-	13,54	-	
	LAD	0,94	0,45	0,90	0,59	-	10,85	-	
Ensilaxe de herba	PB	0,90	-	-	0,63	-	17,62	-	O' Keeffe *et al.* (1987)
Fenolaxe	MS	0,84	0,76	-	-	1,36	-	1,79	Shenk (1993)
	PB	0,97	0,71	-	-	3,37	-	4,75	
	FAD	0,90	1,63	-	-	2,12	-	1,30	
Pastos diversos	MS	0,68	0,58	-	-	3,34	-	5,76	Shenk (1993)
	PB	0,97	1,41	-	-	7,73	-	5,48	
	FAD	0,95	1,96	-	-	7,75	-	3,95	
Planta enteira de millo	CZ	0,69	0,37	-	-	0,66	9,70	1,80	De la Roza *et al.* (1995)
	PB	0,85	0,34	-	-	0,87	12,62	2,56	
	FND	0,91	1,49	-	-	4,93	19,07	3,31	
	ALM	0,90	1,78	-	-	5,59	21,50	3,15	
Ensilaxe de sorgo	PB	0,91	0,39	-	-	-	-	-	Budiongo *et al.* (1996)
	FAD	0,91	1,50	-	-	-	-	-	
	FND	0,95	0,92	-	-	-	-	-	
Pastos semiáridos	CZ	0,88	0,45	0,94	0,51	1,25	9,25	2,45	Vázquez-Aldana *et al.* (1996)
Ensilaxes de millo	CZ	0,55	0,70	-	0,70	1,00	8,71	1,42	De Boever *et al.* (1997)
	PB	0,85	0,30	-	0,60	0,90	6,16	1,50	
	FB	0,80	1,30	-	1,30	2,00	6,07	1,53	
	FND	0,88	1,60	-	1,50	2,40	7,26	1,60	
	FAD	0,88	1,30	-	1,10	2,10	7,27	1,90	
	LAD	0,47	0,30	-	0,40	0,40	4,25	1,00	
	AMD	0,92	2,00	-	2,70	5,50	8,44	2,03	
Trevo branco	CZ	0,92	0,65	0,95	0,41	2,34	32,44	5,71	Berardo (1997)
	PB	0,92	0,97	0,97	0,61	3,36	24,75	5,51	
	FB	0,92	0,75	0,97	0,63	2,60	22,06	4,13	
	FND	0,94	1,62	0,97	1,15	6,86	24,96	5,94	
	FAD	0,92	1,01	0,96	0,71	3,82	22,54	5,38	
	LAD	0,83	0,93	0,89	0,79	2,42	12,91	3,06	
Planta enteira de cereais	CZ	0,88	0,80	-	-	2,30	11,63	2,88	Bruno-Soares *et al.* (1998)
	PB	0,97	0,76	-	-	4,25	22,76	5,59	

	FB	0,90	1,23	-	-	4,01	12,28	3,26	
	FND	0,95	1,77	-	-	7,62	17,12	4,31	
	FAD	0,95	1,68	-	-	7,46	15,65	4,44	
	LAD	0,83	0,56	-	-	1,35	11,07	2,41	
Ensilaxe de herba	PB	0,99	0,95	-	-	-	32,84	-	Corson *et al.* (1999)
	FAD	0,95	2,79	-	-	-	21,58	-	
	CSA	0,87	1,38	-	-	-	17,39	-	
Ensilaxe de millo	PB	0,67	0,61	-	-	-	14,26	-	Corson *et al.* (1999)
	FND	0,95	2,10	-	-	-	25,43	-	
	CSA	0,88	4,79	-	-	-	12,63	-	
Planta enteira de millo	MS	0,72	0,95	0,61	4,25	-	-	-	Cozzolino *et al.* (2001)
	CZ	0,98	0,61	0,64	0,38	-	-	-	
	PB	0,96	0,77	0,86	1,04	-	-	-	
	FAD	0,98	1,65	0,98	1,85	-	-	-	
	FND	0,96	3,43	0,83	2,43	-	-	-	
Feno de alfalfa	CZ	0,77	0,44	-	-	-	10,88	-	Andueza *et al.* (2001)
	PB	0,93	0,93	-	-	-	19,27	-	
	FND	0,92	1,56	-	-	-	15,56	-	
Alfalfa	CZ	0,95	0,41	-	-	-	23,00	-	Andueza *et al.* (2001)
	PB	0,99	0,76	-	-	-	41,21	-	
	FND	0,97	0,82	-	-	-	27,76	-	
Ensilaxe de herba	PB	0,96	0,64	0,96	0,56	-	18,95	5,00	Villamarín *et al.* (2002)
	FAD	0,92	1,50	0,93	1,42	-	13,92	3,60	
	FND	0,95	2,04	0,96	1,80	-	20,76	4,80	
Ensilaxe de millo	CZ	0,71	0,50	-	-	0,98	15,20	1,96	Cozzolino *et al.* (2003)
	PB	0,89	0,50	-	-	1,50	22,20	3,00	
	FAD	0,85	1,80	-	-	4,20	15,06	2,33	
	FND	0,80	3,80	-	-	8,80	11,03	2,32	
Ensilaxe de millo	CZ	0,51	0,61	-	-	1,10	10,16	1,80	Lundberg *et al.* (2004)
	PB	0,97	0,26	-	-	1,40	33,85	5,38	
	FAD	0,88	2,19	-	-	6,10	15,07	2,79	
	FND	0,96	1,67	-	-	8,40	26,41	5,03	
Ensilaxe de herba	CZ	0,73	1,01	-	-	2,20	13,96	2,18	Lundberg *et al.* (2004)
	PB	0,93	0,80	-	-	3,20	19,13	4,00	
	FAD	0,91	1,38	-	-	5,00	17,83	3,62	
	FND	0,94	1,81	-	-	7,60	19,12	4,20	
Alfalfa	CZ	0,98	0,50	0,99	0,50	-	50,00	-	Colombini *et al.* (2005)
	PB	0,96	0,61	0,95	0,65	-	24,62	-	
	FND	0,95	1,55	0,93	2,07	-	16,43	-	
Ensilaxe de herba	PB	0,97	0,90	-	-	-	-	-	Znidaršic *et al.* (2006)
	FB	0,96	1,08	-	-	-	-	-	
	CZ	0,94	1,42	-	-	-	-	-	
Unifeed	CZ	0,77	0,49	-	-	1,10	12,86	2,24	Mentink *et al.* (2006)
	PB	0,87	0,48	-	-	1,40	18,13	2,92	
	EE	0,81	0,40	-	-	1,00	16,75	2,50	
	FND	0,90	1,32	-	-	4,20	21,21	3,18	
	ALM	0,89	3,16	-	-	9,80	13,45	3,10	
Fenos de pradeira	CZ	0,60	0,82	-	-	-	16,95	3,00	Cozzolino *et al.* (2006)
	PB	0,93	1,54	-	-	-	10,13	3,00	
	FAD	0,75	5,00	-	-	-	7,86	1,50	
	FND	0,95	4,97	-	-	-	10,66	2,00	
Ensilaxe de xirasol	PB	0,88	1,01	-	-	-	9,50	2,30	Fassio *et al.* (2007)
	CZ	0,94	0,82	-	-	-	14,24	2,90	
	FND	0,65	5,77	-	-	-	5,40	1,40	
	FAD	0,50	2,91	-	-	-	7,85	1,70	
	EE	0,94	1,53	-	-	-	16,34	4,40	
Planta enteira de xirasol	PB	0,86	0,99	-	-	-	15,56	2,90	Fassio *et al.* (2007)
	CZ	0,85	1,12	-	-	-	13,13	2,20	
	FND	0,62	5,34	-	-	-	5,49	1,20	
	FAD	0,64	2,60	-	-	-	11,98	1,80	
Ensilaxe de herba	CZ	0,89	0,51	-	-	-	-	3,03	Ibañez e Alomar (2008)
	PB	0,95	0,67	-	-	-	-	4,76	
	FND	0,95	1,60	-	-	-	-	4,46	
	FAD	0,96	0,91	-	-	-	-	4,87	

Festuca	PB	0,98	0,65	0,96	0,79	3,32	15,44	4,20	Poblaciones *et al.* (2008)
	FAD	0,91	0,83	0,85	0,93	1,81	8,81	1,94	
	FND	0,94	2,17	0,91	3,36	5,67	7,29	1,68	
	LAD	0,57	1,21	0,12	1,35	1,36	4,64	1,00	
Dactilo	PB	0,98	0,85	0,93	0,98	4,22	17,44	4,30	Poblaciones *et al.* (2008)
	FAD	0,93	0,86	0,93	0,98	3,03	16,12	3,09	
	FND	0,93	1,97	0,87	2,02	4,64	9,90	2,29	
	LAD	0,58	1,40	0,04	1,40	1,61	4,93	1,15	
Ensilaxe de herba	CZ	0,73	1,20	0,71	1,30	1,90	5,32	1,46	Restaino *et al.* (2009)
	PB	0,81	2,00	0,91	1,70	4,30	10,82	2,53	
	FAD	0,80	4,00	0,73	4,80	8,30	9,58	1,73	
	FND	0,75	6,60	0,71	8,10	10,40	4,80	1,28	
Pastos mixtos	PB	0,93	1,68	-	-	6,58	17,41	3,93	Alomar *et al.* (2009)
	FAD	0,90	1,40	-	-	4,59	15,27	3,29	
	FND	0,80	3,36	-	-	7,71	12,86	2,30	
Ensilaxe de grao de millo húmido	CZ	0,84	0,33	-	-	1,1	21,81	3,3	Fassio *et al.* (2009)
	PB	0,85	0,52	-	-	1,1	12,50	2,1	
	FAD	0,90	1,80	-	-	5,5	16,39	3,0	
Pastos mixtos	CZ	0,86	0,99	-	-	2,57	-	2,60	Decruyenaere *et al.* (2009)
	PB	0,98	0,86	-	-	5,90	-	6,86	
Pastos mixtos	PB	0,98	0,67	-	-	-	33,09	6,61	Andueza *et al.* (2011)
	CZ	0,88	0,74	-	-	-	20,59	2,80	
Planta enteira de millo	MO	0,88	0,26	0,88	0,20	0,69	7,32	3,45	Campo *et al.* (2013)
	PB	0,92	0,32	0,83	0,33	0,84	6,23	2,55	
	FAD	0,91	1,68	0,88	1,10	3,15	4,82	2,86	
	FND	0,91	1,03	0,89	1,52	4,54	4,81	2,99	
	CSA	0,89	1,38	0,95	0,74	3,49	5,37	4,72	
	ALM	0,87	2,99	0,85	2,26	5,82	5,08	2,58	
Pastos de montaña	PB	0,98	0,87	-	5,65	-	-	6,46	Dale *et al.* (2013)
	CZ	0,87	1,45	-	3,98	-	-	2,74	
	EE	0,60	0,78	-	1,24	-	-	1,59	
	FB	0,95	1,97	-	8,68	-	-	4,41	
	FAD	0,95	3,36	-	15,21	-	-	4,53	
	LAD	0,90	2,60	-	8,30	-	-	3,19	
Ensilaxe de herba	PB	0,95	0,80	-	-	-	23,68	4,04	Dias (2015)
	FND	0,86	1,79	-	-	-	18,01	3,00	
	FAD	0,91	1,39	-	-	-	15,22	3,11	
	LAD	0,51	5,85	-	-	-	6,30	1,24	
	CZ	0,90	0,70	-	-	-	16,09	3,07	
	EE	0,46	0,45	-	-	-	8,40	1,29	
Ensilaxe de millo	PB	0,85	0,26	-	-	-	16,88	3,16	Dias (2015)
	FND	0,87	1,79	-	-	-	13,82	3,03	
	FAD	0,84	1,16	-	-	-	12,37	3,03	
	LAD	0,51	0,35	-	-	-	9,29	1,96	
	CZ	0,93	0,26	-	-	-	14,08	3,58	
	EE	0,73	0,25	-	-	-	6,72	1,83	
Pastos mixtos	PB	0,98	0,59	-	-	3,35	9,78	5,64	Vranić *et al.* (2016)
	MO	0,53	0,76	-	-	1,27	7,65	1,68	
	FND	0,87	2,44	-	-	7,19	11,36	2,95	
	FAD	0,45	1,88	-	-	2,82	9,32	1,51	
Gramíneas diversas	PB	0,98	0,47	-	-	-	-	-	Juan *et al.* (2016)
	FND	0,95	1,93	-	-	-	-	-	
Planta enteira de millo e sorgo e as súas fraccións (folla, talo e inflorescencias)	PB	0,97	0,54	-	-	-	38,93	5,63	Juan *et al.* (2016)
	FND	0,96	2,51	-	-	-	22,23	4,99	
Raigrás italiano	PB	0,99	0,68	0,99	0,57	5,36	35,72	9,37	Yang *et al.* (2017)
	FND	0,94	2,23	0,91	2,60	8,95	12,03	3,44	
	FAD	0,92	1,68	0,95	1,32	5,81	15,64	4,40	
	CSA	0,88	3,11	0,91	2,56	8,68	13,50	3,39	
Pastos naturais	PB	0,88	2,14	-	-	-	4,34	2,26	Parrini *et al.* (2019)
	CZ	0,64	1,05	-	-	-	10,48	1,87	
	EE	0,45	0,28	-	-	-	3,96	1,18	

	FND	0,76	4,00	-	-	-	7,50	1,54	
	FAD	0,82	2,79	-	-	-	9,84	2,57	
	LAD	0,729	1,83	-	-	-	6,62	1,61	
Pastos de montaña	CZ	0,83	0,63	0,71	0,79	-	-	1,87	Berauer *et al.* (2020)
	EE	0,86	0,23	0,73	0,37	-	-	1,69	
	PB	0,42	3,32	0,30	3,36	-	-	1,10	
	FB	0,93	0,64	0,83	1,06	-	-	2,40	

SD: desviación estándar; RER: relación entre o rango de valores de referencia e o erro estándar de validación cruzada ou de predición; RPD: relación entre a SD do conxunto de mostras para o valor de referencia e o erro estándar de validación cruzada ou de predición; R^2: coeficiente de determinación do modelo de calibración; $SECV$: erro estándar de validación cruzada; r^2: coeficiente de determinación en validación externa; SEP: erro estándar de predición; CZ: cinzas (%MS); PB: proteína bruta (%MS); FAD: fibra ácido deterxente (%MS); FND: fibra neutro deterxente (%MS); LAD: lignina ácido deterxente (%MS); FB: fibra bruta (%MS); EE: extracto etéreo (%MS); ALM: amidón (%MS); CSA: carbohidratos solúbeis en auga (%MS)

1.10.1.1 Cinzas

NIRS mide a absorción da radiación polos enlaces moleculares, de maneira que as formas minerais non iónicas non presentan bandas de absorción. Sen embargo, os complexos orgánicos que forman determinados minerais (fitatos e quelatos, por exemplo) poden ser detectados por NIRS. Por outra banda, algunhas substancias iónicas presentan absorbancia na rexión NIR incluíndo sulfatos, carbonatos e fosfatos, o que permite o desenvolvemento de calibracións NIRS para estimar o contido mineral total (cinzas) ou diversos compoñentes minerais maiores nas mostras de forraxes (Shenk e Westerhaus, 1993). No traballo de Vázquez de Aldana *et al.* (1996) sobre a estimación mediante NIRS do contido en cinzas de mostras de pastos de climas semiáridos, se indican para o modelo de calibración un valor de ±0,46% para SEC e de 0,88 para R^2 e un valor de ±0,51% para o erro de predición SEP en validación externa. Para pastos de alfalfa e festuca Windham *et al.* (1991) desenvolveron satisfactoriamente calibracións NIRS para estimar o contido en cinzas, obtendo valores de ±1,44 e ±1,42% para SEC e SEP, respectivamente.

De forma similar, Andueza *et al.* (2001) desenvolveron calibracións NIRS para estimar o contido en cinzas de mostras de fenos e de forraxe verde de alfalfa, que permitiron explicar, respectivamente, o 77 e o 95% da variabilidade. Tamén para mostras de alfalfa, Colombini *et al.* (2005) reportan a capacidade de NIRS para predicir adecuadamente o contido en cinzas, con valores de 0,98 para o coeficiente de determinación e un erro estándar de predición en validación cruzada de ±0,50%. Para unha colección de ensilaxes de planta enteira de millo cun valor medio en CZ de 4,5 %MS, De la Roza *et al.* (1995) indican que a estimación NIRS do contido en cinzas non foi satisfactoria, indicando valores de $1 - VR$ e $SECV$ no proceso de validación cruzada de, respectivamente, 0,61 a 0,69 e de ±0,36 a ±0,42%. Coincidindo con esta

observación, Cozzolino *et al*. (2003) reportan tamén un poder preditivo mediocre da calibración NIRS para estimar o contido en CZ dunha colección de 200 mostras de planta enteira de millo cun contido medio de 6,3 %MS para este parámetro, obtendo en validación cruzada valores de 0,71 para $1 - VR$ e de ±0,50% para $SECV$.

1.10.1.2 Proteína

Un dos parámetros máis frecuentemente estimados por NIRS en forraxes é o contido en N total ou en proteína bruta (N x 6,25) con valores de R^2 de 0,95 ou superiores para o modelo de predición e erros estándar comparábeis cos erros de laboratorio. Esta precisión se relaciona coa existencia dunha alta absorción da radiación NIR polo enlace N-H nas bandas de 1435-1565 e 2050-2295 nm. Adicionalmente, as concentracións relativamente altas de PB nas forraxes e a súa elevada variabilidade entre especies e sobre todo estados de madurez que sitúa a este parámetro no rango de 3 a máis de 40 %MS é outro factor que explica a bondade das calibracións (Roberts *et al*., 2003). Esta variabilidade explica tamén a alta precisión do método Kjeldhal en comparación cos métodos analíticos utilizados para outros compoñentes. A espectroscopía NIR pode medir enlaces peptídicos (=N-H), aminas e outras substancias nitroxenadas, ademais de proteínas, polo que a relación entre a estimación NIRS e o valor do método de referencia dependerá das absorbancias detectadas polo instrumento e o contido en N total. Por esta razón, o contido en PB é determinado con maior precisión en forraxes frescas que en ensilaxes, debido aos produtos de degradación das proteínas, ás perdas de volátiles durante o procesado ou ás dificultades de mostraxe, en particular cando a mostra se presenta ao aparato en estado húmido.

Robert *et al*. (1986), para unha colección de mostras secas de forraxes multiespecie recollidas en distintos estados de madurez, indicaron que NIRS permitía explicar o 98% da varianza do contido de PB no conxunto de validación externa, cun erro de predición de ±0,94%, sendo o valor medio da PB de 14,7 %MS. Nun traballo posterior realizado tamén sobre unha colección de mostras de diferentes especies, Andueza *et al*. (2011) reportaron que as ecuacións mostraron valores do erro estándar de predición para a estimación de proteína moi semellantes e no entorno do ±1,10 a ±1,13% para os modelos globais e específicos por especie ou por familias.

Resultados similares foran obtidos anteriormente por outros autores, como Marten *et al*. (1989) con mostras de planta enteira de cereal de inverno (valor medio de PB 16,4

%MS) indicando en validación externa valores de r^2 = 0,98 e SEP = ±0,68%. Para unha colección de gramíneas pratenses e de alfalfa, con valores medios respectivos da PB de 13,5 (rango 5,3-25,4 %MS) e de 19,5 (rango 8,8-35,7 %MS), De Boever *et al*. (1998) reportaron en calibración valores de R^2 de 0,97 e 0,96 e de SEC de ±1,0 e ±1,2% para gramíneas e alfalfa, respectivamente. Para mostras de alfalfa en forma de feno e en estado fresco, Andueza *et al*. (2001) obtiveron calibracións NIRS que explicaron unha elevada porcentaxe de varianza do conxunto de calibración, con valores de R^2 de entre 0,93 e 0,99. Tamén para mostras frescas de alfalfa Colombini *et al*. (2005) indican que NIRS ten unha elevada capacidade preditiva do contido en PB, con valores de $1 - VR$ entre 0,95 e 0,96 e un baixo erro de predición $SECV$ en validación cruzada entre ±0,61 e ±0,65%.

Diversos autores mostraron a capacidade de NIRS para estimar o valor proteico da planta enteira de millo. Por exemplo, De la Roza *et al*. (1995) obtiveron valores do coeficiente de determinación e de $SECV$ en validación cruzada de 0,85 e ±0,34%, respectivamente, para unha colección de mostras secas cun contido medio en PB de 8,9 %MS. De forma similar, Cozzolino *et al*. (2003) conseguen unha aceptábel precisión das calibracións NIRS para estimar o contido en PB dunha colección de 200 mostras de ensilaxe de millo cun contido medio en PB de 7,9 %MS reportando valores en validación cruzada de 0,89 para $1 - VR$ e de ±0,50% para $SECV$.

1.10.1.3 Fibra

Ademais da proteína, o constituínte máis usualmente estimado por NIRS en forraxes é o contido en fibra. Na actualidade, tanto a concentración de FAD como a de FND son comunmente obxecto das calibracións NIRS. Aínda que FND é unha "propiedade" das forraxes e non un constituínte químico, pode ser estimado debido ás variacións nos enlaces C-H e O-H no rango 30-80 %MS. As calibracións para lignina reportadas na literatura se refiren maioritariamente a especies de gramíneas e leguminosas (Reeves, 1988a,1988b; Jenisch *et al*., 1994) e a precisión das estimacións é, polo xeral, menor que ás reportadas para a estimación de PB, FND ou FAD. Por exemplo, no traballo de Reeves (1988b) sobre unha colección de 67 mostras de forraxes (alfalfa, varias gramíneas e a fracción vexetativa de plantas de millo e de trigo) se obtiveron resultados satisfactorios para a predición por NIRS de FAD, FND e lignina, con valores do coeficiente de determinación superiores a 0,94 para o conxunto de validación cruzada

indicando que, en xeral, os resultados para a predición de fibra foron mellores que para lignina.

Para mostras de planta enteira de millo, De la Roza *et al*. (1995) desenvolveron calibracións NIRS que permitiron estimar o contido en FND con alta fiabilidade, indicando valores de $1-VR$ e $SECV$ de 0,91 e ±1,46% en validación cruzada. Campo *et al*. (2010), nun estudo sobre unha ampla colección de mostras de planta enteira de millo reportan ecuacións NIRS satisfactorias para a estimación de FND, FAD e CEL con valores de RPD en validación externa de 3,1 para FND, de 3,3 para FAD e de 4,6 para CEL, adecuadas para efectuar predicións cuantitativas, pero a de lignina mostrou unha precisión inferior, cun valor de RPD de 1,7 que só permitiría unha clasificación en rangos de mediocre calidade. Os resultados coinciden cos obtidos por outros autores, como Cozzolino *et al*. (2003) que para a estimación de FAD en mostras de ensilaxe de millo obteñen, en validación cruzada, valores de 0,90 para $1-VR$ e de ±3,8% para $SECV$. Para a estimación do contido en FND de mostras de alfalfa en estado fresco, Andueza *et al*. (2001) obteñen ecuacións NIRS con valores de R^2 entre 0,92 e 0,90 e Colombini *et al*. (2005) para o mesmo tipo de forraxe reportan valores de $1-VR$ entre 0,93 e 0,95 e de $SECV$ entre ±1,55 e ±2,07%.

Wittcop *et al*. (2012) estudaron a utilidade da técnica NIRS para estimar o contido en FND, FAD e LAD en sementes de colza (*Brassica napus*) utilizando unha colección de 338 xenotipos con ampla variabilidade, obtendo modelos con alta fiabilidade para LAD e algo menos precisos para FND e FAD, mentres que noutro traballo máis recente Asekova (2016), utilizando unha colección de 353 mostras de planta enteira de soia obtivo ecuacións NIRS con valores do coeficiente de determinación en validación externa e de RPD de, respectivamente, 0,76 e ±2,0 para FND e de 0,74 e ±1,9 para FAD, indicando que os modelos eran só de utilidade con propósito de clasificación das mostras en diferentes grupos ou rangos de contido en fibra, pero non para a predición cuantitativa deste parámetro.

1.10.1.4 Extracto etéreo

As calibracións NIRS para estimar o contido en extracto etéreo de forraxes son menos frecuentes na bibliografía. A estimación mediante NIRS é posíbel pola característica banda de absorción do enlace alifático C-H entre 1700 e 2300 nm. As calibracións mostran un poder preditivo variábel (Amari e Abe, 1997; Park *et al*., 1998) o que se

atribúe fundamentalmente a que as forraxes conteñen, polo xeral, baixas concentracións de lípidos na materia seca e que a variabilidade desta concentración é relativamente baixa. Font *et al*. (2006) desenvolveron con éxito calibracións NIRS para determinar o contido en aceite en sementes de oleaxinosas obtendo altos valores do coeficiente de determinación en calibración (R^2>0,90) mostrando que as ecuacións permitían realizar o cribado de mostras para seleccionar diferentes grupos con obxecto de realizar análises químicas máis detalladas sobre as mesmas como era a composición do perfil de ácidos graxos. A adecuación da técnica NIRS para a estimación do contido en EE de planta enteira de soia foi posta de manifesto por Asekova (2016), que obtivo, en validación externa, valores de r^2 de 0,93 e de 3,8 para RPD, cun poder preditivo comparábel ao da proteína bruta nesta forraxe.

1.10.1.5 Carbohidratos non estruturais

A causa da súa natureza complexa e da variabilidade imposta polas condicións ambientais e de tratamento post-colleita, aparte das relativas a factores xenéticos e de estado de madurez, a predición NIRS do contido en carbohidratos non estruturais non adoitan ser tan exacta como a de PB (Shenk e Westerhaus, 1993), pese ao cal a técnica NIRS permite a súa estimación con aceptábel fiabilidade (Murray, 1993). Neste sentido, a utilidade de NIRS para os traballos de selección e mellora do contido en CSA do raigrás inglés foi demostrada por Jafari *et al*. (2003), comprobando que NIRS era unha técnica fiábel para tal propósito, sendo reportados en validación externa valores de 0,96 para r^2 e de ±1,2 para SEP, moi próximos aos encontrados para o contido en PB.

Para unha colección de mostras de planta enteira de millo, De la Roza *et al*. (1995) obtiveron en validación cruzada valores de 0,90 para o coeficiente de determinación e de ±1,78% para $SECV$ que permitiron predicir con fiabilidade mediante NIRS o contido en amidón. Co mesmo propósito, Campo e Moreno-González (2014) estudaron a capacidade de NIRS para estimar o contido en amidón (ALM) en graos de millo enteiros ou moídos, indicando que as mellores ecuacións de predición se conseguiron para a fariña, obtendo en validación cruzada valores de $SECV$ e RPD de ±0,79% e 2,7, respectivamente, mentres que en validación externa os valores de SEP e RPD foron de ±0,74% e 2,7, respectivamente. Os citados autores concluíron que a técnica NIRS pode utilizarse para estimar o contido en ALM con exactitude en fariña e só permitiría realizar estimacións aproximadas en gran.

1.10.2 Predición de parámetros fermentativos en ensilaxes

O pH e os produtos de fermentación das ensilaxes afectan a inxestión voluntaria e a produción e poden modificar as propiedades organolépticas do leite e produtos lácteos (Huhtanen *et al*., 2003; Borreani *et al*., 2018). A posibilidade de utilizar NIRS para a estimación rápida dos parámetros fermentativos das ensilaxes foi estudada por diversos autores. Por exemplo, Reeves *et al*. (1989) desenvolveron ecuacións NIRS para analizar o valor nutricional de forraxes en estado húmido, utilizando unha colección de 146 mostras de ensilaxes diversos, indicando unha satisfactoria predición dos valores de pH e nitróxeno amoniacal (N-NH_3) en ensilaxes de alfalfa, con valores do coeficiente de determinación en validación externa r^2 de 0,82 e 0,90, respectivamente, mentres que a calidade das estimacións de ditos parámetros foi máis baixa para ensilaxes de millo (r^2 entre 0,72 e 0,75), sendo as estimacións do contido nos ácidos de fermentación láctico (LACT), acético (ACET), propiónico (PROP), butírico (BUT) e outros minoritarios considerabelmente menos precisa, sobre todo para as ensilaxes de millo.

Sinnaeve *et al*. (1994) utilizaron a técnica NIRS con mostras frescas de ensilaxe a fin de evitar a volatilización dos produtos de fermentación utilizando o método de reflectancia e de transmitancia. Os mellores resultados se obtiveron en modo reflectancia, obtendo valores de r^2 e SEP na validación das ecuacións sobre un conxunto independente de mostras de 0,90 e ±0,23% para pH, de 0,93 e ±1,07% para N-NH_3 (% N total), de 0,86 e ±0,83% para LACT e de 0,85 e ±0,16% para ACET, respectivamente, concluíndo que as características fermentativas das ensilaxes se poden predicir adecuadamente por NIRS a partir de mostras en estado fresco. Utilizando unha colección de mostras de ensilaxes de herba e de millo, Sørensen (2004) desenvolveu calibracións NIRS para determinar pH e as concentracións de ácidos láctico e acético, N amoniacal e etanol, comparando o efecto de utilizar mostras frescas ou secas e moídas no desenvolvemento das calibracións, reportando que polo xeral, os parámetros fermentativos se determinan con maior precisión cando se realizan sobre material seco que cando se utiliza en estado fresco. Isto se explica, en parte, pola maior repetibilidade das medicións no primeiro caso, sendo advertido que a redución de traballos de laboratorio que supón o non ter que acondicionar a mostra mediante secado e moenda, cando as medidas se realizan sobre as mostras frescas, se pode ver anulado polas maiores necesidades de almacenamento e de man de obra no pretratamento da mostra, así como por dificultades de automatización no proceso de medida e de mostraxe para obter mostras representativas nas

determinacións de referencia no laboratorio. No traballo se indica que durante o secado a 80 ºC durante 16 h na estufa se rexistraron perdas do 3-4% para LACT, de 57-83% para ACET e de 16-53% para N-NH_3, polo que a comprobada capacidade das ecuacións NIRS para a aceptábel predición destes compostos sería indicativa de que as calibracións non estiman a súa concentración directamente, senón que mide propiedades relacionadas co contido dos produtos de fermentación.

O tipo de constituínte e o rango de valores do conxunto de calibración afectan á calidade da predición, como indican Corson *et al*. (1999) que reportan baixos valores do coeficiente de determinación en calibracións que estimaban pH nunha colección de ensilaxes de millo (R^2=0,38) atribuíndo este feito ao estreito rango de variación (entre 3,6 e 4,2) deste parámetro, facendo notar que o erro relativo da predición (definido como SEP x 100/Media de pH) é unicamente do 3%, claramente por baixo do marxe de erro (± 5%) que se considera usualmente aceptábel. Fassio *et al*. (2009) desenvolveron calibracións NIRS para estimar pH e o contido en N-NH_3 dunha colección de 98 ensilaxes de grao de millo en estado húmido (70-78% MS) indicando que as ecuacións de predición dos valores de pH e de N-NH_3 mostraron unha capacidade preditiva mediocre, apta unicamente para obter unha clasificación cualitativa das mostras, con valores de RPD e RER en validación cruzada de 2,0 e 8,3 para pH e de 2,1 e 9,4 para N-NH_3, respectivamente.

Como resumo dos resultados de traballos de referencia realizados nesta área de estudos, na Táboa 16 se indican os estatísticos de calibración e validación de ecuacións NIRS para a estimación de parámetros fermentativos en ensilaxes de forraxes reportados por diversos autores.

Táboa 16.- Comparación da calidade preditiva de parámetros fermentativos de distintas ensilaxes mediante NIRS

Tipo de forraxe	Parámetro	Calibración		Validación		*SD*	*RER*	*RPD*	Referencia
		R^2	*SECV*	r^2	*SEP*				
Ensilaxe de alfalfa	N-NH_3 (%NT)	0,91	0,29	0,90	0,40	1,24	-	3,10	Reeves III *et al.* (1989)
	pH	0,82	0,18	0,82	0,42	0,79	-	1,88	
	ACET (%MS)	0,84	0,51	0,66	0,77	0,94	-	1,22	
	PROP (%MS)	0,86	0,06	0,71	0,10	0,18	-	1,80	
	ISOBUT (%MS)	0,61	0,08	0,69	0,07	0,09	-	1,29	
	BUT (%MS)	0,80	0,22	0,91	0,19	0,49	-	2,58	
	ISOVAL (%MS)	0,32	0,04	0,40	0,04	0,05	-	1,25	
	LACT (%MS)	0,96	0,50	0,73	1,36	2,58	-	1,90	
	VAL (%MS)	0,23	0,07	0,40	0,09	0,11	-	1,22	

Ensilaxe de millo	$N\text{-}NH_3$ (%NT)	0,82	0,24	0,75	0,16	0,30	-	1,88	Reeves III *et al.* (1989)
	pH	0,14	0,49	0,72	0,14	0,24	-	1,71	
	ACET (%MS)	0,75	0,47	0,52	0,59	0,66	-	1,12	
	PROP (%MS)	0,60	0,28	0,37	0,31	0,33	-	1,06	
	ISOBUT (%MS)	0,44	0,06	0,22	0,08	0,09	-	1,13	
	BUT (%MS)	0,36	0,06	0,16	0,07	0,04	-	0,57	
	ISOVAL (%MS)	0,40	0,04	0,20	0,04	0,03	-	0,75	
	LACT (%MS)	0,59	0,97	0,66	0,89	1,53	-	1,72	
	VAL (%MS)	0,12	0,05	0,23	0,04	0,05	-	1,25	
Todas as ensilaxes	$N\text{-}NH_3$ (NT)	0,87	0,35	0,82	0,39	0,90	-	2,31	Reeves III *et al.* (1989)
	pH	0,85	0,28	0,55	0,45	0,65	-	1,44	
	ACET (%MS)	0,74	0,56	0,57	0,79	1,08	-	1,37	
	PROP (%MS)	0,63	0,25	0,51	0,27	0,30	-	1,11	
	ISOBUT (%MS)	0,57	0,08	0,33	0,12	0,14	-	1,17	
	BUT (%MS)	0,68	0,18	0,57	0,29	0,43	-	1,48	
	ISOVAL (%MS)	0,38	0,03	0,26	0,04	0,05	-	1,25	
	LACT (%MS)	0,71	1,41	0,74	1,30	2,49	-	1,92	
	VAL (%MS)	0,33	0,07	0,27	0,07	0,08	-	1,14	
Ensilaxe de millo	LACT (%MS)	0,82	0,85	-	-	-	12,59	-	Corson *et al.* (1999)
	pH	0,38	0,08	-	-	-	7,50	-	
Ensilaxe de millo	pH	0,75	0,20	-	-	0,40	11,00	2,00	Cozzolino *et al.* (2003)
Ensilaxe de herba	$N\text{-}NH_3$ (%MS)	0,89	0,02	-	0,03	-	-	2,50	Sørensen (2004)
	LACT (%MS)	0,96	0,71	-	0,54	-	-	6,30	
	ACET (%MS)	0,68	0,97	-	0,65	-	-	2,50	
	pH	0,92	0,11	-	0,11	-	-	4,80	
	EtOH (%MS)	0,89	0,22	-	0,20	-	-	2,80	
Ensilaxe de millo	$N\text{-}NH_3$ (%MS)	0,77	0,01	-	0,01	-	-	2,90	Sørensen (2004)
	LACT (%MS)	0,95	0,36	-	0,39	-	-	3,80	
	ACET (%MS)	0,72	0,52	-	0,40	-	-	2,00	
	pH	0,78	0,06	-	0,07	-	-	2,20	
	EtOH (%MS)	0,92	0,11	-	0,10	-	-	3,70	
Ensilaxe de millo	ACET (%MS)	0,82	0,23	0,73	0,21	-	-	-	Park *et al.* (2005)
	PROP (%MS)	0,50	0,14	0,32	0,11	-	-	-	
	BUT (%MS)	0,19	0,15	0,00	0,00	-	-	-	
	LACT (%MS)	0,73	0,81	0,80	0,58	-	-	-	
Ensilaxe de xirasol	pH	0,86	0,44	-	-	-	5,91	2,50	Fassio *et al.* (2007)
Ensilaxe de herba	pH	0,74	0,14	-	-	-	-	1,89	Ibañez e Alomar (2008)
	$N\text{-}NH_3$ (%NT)	0,72	1,49	-	-	-	-	1,64	
Ensilaxe de herba	pH	0,70	0,34	0,51	0,67	0,87	7,31	1,30	Restaino *et al.* (2009)
Ensilaxe de grao de millo húmido	pH	0,91	0,30	-	-	0,61	8,33	2,03	Fassio *et al.* (2009)
	$N\text{-}NH_3$ (%NT)	0,90	1,07	-	-	2,30	9,40	2,15	
Ensilaxe de herba	pH	0,46	0,39	-	-	-	7,95	1,44	Dias (2015)
	$N\text{-}NH_3$ (%NT)	0,11	3,60	-	-	-	5,54	1,08	
Ensilaxe de millo	pH	0,56	0,15	-	-	-	8,67	1,48	Dias (2015)
	$N\text{-}NH_3$ (%NT)	0,25	2,71	-	-	-	5,28	1,23	

SD: desviación estándar; RER: relación entre o rango de valores de referencia e o erro estándar de validación cruzada ou de predición; RPD: relación entre a SD do conxunto de mostras para o valor de referencia e o erro estándar de validación cruzada ou de predición; R^2: coeficiente de determinación do modelo de calibración; $SECV$: erro estándar de validación cruzada; r^2: coeficiente de determinación en validación externa; SEP: erro estándar de predición; MS: materia seca; LACT: ácido láctico (%MS); ACET: ácido acético (%MS); PROP: ácido propiónico (%MS); VAL: ácido valérico (%MS); BUT: ácido butírico (%MS); ISOVAL: ácido isovalérico (%MS); ISOBUT: ácido isobutírico (%MS); EtOH: etanol (%MS); NT: nitróxeno total; $N\text{-}NH_3$: nitróxeno amoniacal

1.10.3 Predición de parámetros biolóxicos

A diferenza das ecuacións NIRS para a predición da composición química de forraxes, que polo xeral mostran coeficientes de determinación elevados e erros estándar baixos, as ecuacións baseadas en resultados de bioensaios son tipicamente baixas en precisión pero poden ser igualmente útiles para a estimación do verdadeiro valor do atributo da forraxe. Entre as razóns que explicarían a menor fiabilidade das calibracións NIRS baseadas en bioensaios, Windham e Coleman (1989), indicaban o efecto das condicións ambientais, das características inherentes ao alimento (tamaño de partícula, por exemplo) que, sen modificar a estrutura química das mostras, afectan aos resultados, así como que determinados factores que afectan aos resultados do bioensaio poden ou non ser entidades químicas claramente definidas, como é o caso da lignina ou da fibra, que condicionan, por exemplo, os valores da dixestibilidade *in vivo*. Sen embargo, usualmente a precisión da predición da calidade da forraxe mediante NIRS é maior que a precisión das análises de dixestibilidade *in vitro* ou *in vivo*, polo que os erros de predición destes parámetros son máis unha función da calidade da execución do ensaio polo cal se determinan os valores de referencia que dos erros cometidos na análise NIRS.

Normalmente os erros nas determinacións de parámetros biolóxicos son comparativamente máis elevados que as determinacións de parámetros químicos no laboratorio. Shenk (datos non publicados, citado en Windham e Coleman, 1989) estableceu unha relación entre o valor do coeficiente de determinación da calibración NIRS para un parámetro dado, o erro cometido na súa determinación polo método de referencia no laboratorio e a variabilidade da colección de calibración para este parámetro dado, indicando a ecuación $R^2 = 1 - (\frac{2\,SEL}{SD})^2$ onde R^2 é o coeficiente de determinación por NIRS, SEL é o erro estándar medio de laboratorio para o procedemento ou determinación *in vivo* e SD é a desviación estándar do parámetro para os valores da colección. Esta ecuación é de utilidade para estimar inicialmente a fiabilidade da calibración NIRS a partir dos datos da colección de calibración, toda vez que con valores altos de SEL e baixos de SD, o valor de R^2 é insignificante e a calibración NIRS non sería de utilidade, pero a medida que o SD das mostras aumenta pódese obter un valor aceptábel para o coeficiente de determinación. Por outra parte, a partir da fórmula se pode obter o valor de SEL a partir de SD e de R^2 xa que, polo xeral,

o valor do erro estándar de calibración SEC é aproximadamente 2 veces o valor do erro estándar de laboratorio SEL.

1.10.3.1 Predición da dixestibilidade

A dixestibilidade é un compoñente funcional do tecido vexetal que reflicte o valor nutritivo da forraxe para o ruminante e influencia, asemade, o nível de inxestión potencial (Stuth *et al*., 2003). Na bibliografía existen numerosas referencias de calibracións NIRS para a estimación do valor de dixestibilidade de forraxes, sendo este valor asociado coas absorcións da radiación NIR na rexión de 2270 nm correspondente á celulosa e á lignina, así como na banda de arredor de 1670 nm única para a lignina (Murray, 1990). As calibracións NIRS para dixestibilidade se basean en procedementos efectuados por métodos de referencia tanto de determinacións *in vivo* (por exemplo De Barber *et al*., 1990; Baker *et al*., 1994, Boever *et al*., 1996; Park *et al*., 1997 e Park *et al*., 1998 para ensilaxes de herba e Dardenne *et al*., 1993 para planta enteira de millo) como de determinacións *in vitro* por métodos baseados na dixestión con inóculo ruminal (por exemplo, Zimmer *et al*., 1990; Liu *et al*., 2008; Campo *et al*., 2013) ou mediante métodos enzimáticos (por exemplo Jones e Hayward, 1975; Clarke *et al*., 1982; De Boever *et al*., 1986; Bughara *et al*., 1992; De Boever *et al*., 1994; Albanell *et al*., 1997 e De la Roza *et al*., 1995).

Os traballos de Norris *et al*. (1976) utilizando un instrumento monocromador de varrido foron os primeiros en reportar que NIRS podía predicir razoabelmente ben a dixestibilidade *in vivo* de forraxes, indicando un coeficiente de determinación r^2 de 0,78 para a dixestibilidade da MS de mostras de gramíneas e leguminosas pratenses avaliadas *in vivo* con ovinos. Burdick *et al*. (1981) observaron erros de predición da dixestibilidade *in vivo* de fenos de gramíneas entre ±1,78 e ±2,54%, que eran inferiores aos obtidos nos ensaios de alimentación animal. Nesta liña, os traballos de Shenk *et al*. (1982) demostraron que a predición da dixestibilidade de fenos de pradeira por NIRS era tan fiábel como a proporcionada por regresións múltiples baseadas no contido en fibra e a dixestibilidade *in vitro* das mostras. Outros traballos, como os de Lindgren (1983) mostraron que NIRS podía realizar satisfactoriamente a predición da dixestibilidade *in vivo* de gramíneas forraxeiras pratenses, indicando a conveniencia de desenvolver ecuacións específicas para forraxes frescas, fenos e ensilaxes. Por outra banda, Eckman *et al*. (1983) utilizaron datos de experimentos con ovinos alimentados

con dietas de forraxes mixtas e monoespecíficas para comparar a capacidade preditiva de NIRS e de análises de laboratorio (PB, FND e dixestibilidade *in vitro*) para estimar a dixestibilidade e inxestión voluntaria *in vivo*, reportando que os erros estándar de calibración para NIRS eran menores ou iguais que os das ecuacións que utilizaban os datos de laboratorio como preditores.

O interese de desenvolver calibracións directas a partir de coleccións de dixestibilidade *in vivo* coñecida se basea na avantaxe de eliminar técnicas de laboratorio intermedias, pero ten a dificultade de requirir datos de amplas series de mostras avaliadas mediante ensaios *in vivo* que deben ser realizados en condicións estandarizadas e repetíbeis (Barber *et al*., 1990; Baker *et al*., 1994; Flinn *et al*., 2000a,b). Dado que a dixestibilidade é unha propiedade da forraxe e non un parámetro químico, a predición por NIRS pode ser máis dificultosa, xa que as medidas de dixestibilidade *in vivo* introducen un "factor animal" nos procesos de calibración. O erro adicional pode ser resolto mediante a ampliación do número de animais en cada ensaio para reflectir a variabilidade ou ben, debido aos problemas intrínsecos das determinacións, aceptar unha menor precisión nas ecuacións.

Diversos traballos indican que a tecnoloxía NIRS permite estimar a dixestibilidade das forraxes de forma precisa e repetíbel, polo menos en igual medida que as estimacións realizadas por métodos de laboratorio como a dixestión *in vitro* con líquido ruminal ou por métodos enzimáticos, e de forma moito máis rápida (Dryden, 2003b). A precisión da estimación da dixestibilidade das forraxes é, globalmente, algo inferior á observada para a composición química, sendo o valor medio do SEP aproximadamente o duplo do correspondente valor para os constituíntes químicos orgánicos (Dryden, 2003b).

Na Táboa 17 se mostra a orde de magnitude dos erros de predición mediante NIRS observada nos laboratorios do INRA para os principais parámetros do valor nutricional determinados nas forraxes (Bastianelli *et al*., 2018), mostrando que os valores de $SECV$ ou de SEP para a determinación do valor enerxético (rango 1,9-3,0) son superiores aos parámetros dos compoñente químicos (rango 0,3-2,1).

Táboa 17.- Rango de variación para os erros de predición dos principais parámetros determinados en forraxes e alimentos destinados aos ruminantes no INRA

Parámetro	Erro de predición (*SECV* ou *SEP*)
Cinzas (%MS)	0,3 - 1,8
Proteína bruta (%MS)	0,4 - 1,4
Fibra nutro deterxente (%MS)	1,2 - 2,1
Fibra ácido deterxente (%MS)	0,7 - 1,5
Lignina ácido deterxente (%MS)	0,3 - 0,7
Azucres solubles (%MS)	0,3 - 1,0
Amidón (%MS)	0,8 - 1,8
Graxa bruta (%MS)	0,4 - 0,8
Dixestibilidade *in vitro* método pepsina-celulasa (%)	1,6 - 2,5
Dixestibilidade *in vivo* (%)	1,9 - 3,0

MS: materia seca; *SECV*: erro estándar de validación cruzada; *SEP*: erro estándar de predición; Fonte: Bastianelli *et al*. (2018)

Robert *et al.* (1986) avaliaron a capacidade de NIRS para a predición da dixestibilidade *in vivo* dunha colección de forraxes diversas con valor medio de DMO de 66,2%, obtendo uns estatísticos de validación externa de 0,93 para r^2, de ±2,51% para *SEP* e de 2,53 para RPD_{ve}, mostrando unha precisión intermedia na estimación. Para unha colección de 82 mostras de fenos de gramíneas e de leguminosas de DMS *in vivo* determinada con gando vacún e ovino, Redshaw *et al*. (1986) obtiveron valores de *SEP* de ±2,4% para as calibracións NIRS cando utilizaban valores de referencia obtidos con vacún e de ±4,4% cando as determinacións *in vivo* se realizaron con ovinos. A variabilidade dos datos de referencia procedentes de gando vacún explicou aproximadamente a metade da variabilidade na predición de dixestibilidade por NIRS, mentres que esta proporción se reduciu a 1/6 cando se trataba de valores obtidos con ovino. Para unha colección de 182 mostras de ensilaxes de herba Baker *et al*. (1994), estudando o efecto do método de calibración para controlar os efectos da humidade residual e do tamaño de partícula, reportan valores de r^2 = 0,82 e *SEP* = ±2,3% para o conxunto de validación externa. Barber *et al*. (1990) compararon a predición de DMO *in vivo* a partir de determinacións de DMO *in vitro* polos métodos Tilley-Terry e celulasas, mediante parámetros químicos baseados en lignina e FAD_M e mediante análise NIRS, resultando que NIRS era o método máis preciso, con valores do coeficiente de determinación en validación externa de r^2 = 0,76, comparado con r^2 entre 0,14 e 0,64 para os outros métodos.

No estudo de Givens *et al.* (1991) realizado con pallas de cereal tratadas ou non con amoníaco, a espectroscopía NIR superou os métodos convencionais *in vitro* obtendo

valores do coeficiente de determinación no conxunto de validación externa r^2 de 0,64 para NIRS comparados con 0,60 para o método Tilley-Terry e de entre 0,48 e 0,58 para métodos enzimáticos de dixestión con celulasas. De Boever *et al*. (1996) usando un conxunto de 64 ensilaxes de herba comparou a capacidade preditiva da DMO *in vivo* a partir de ecuacións empíricas baseadas na composición química, da espectroscopía NIR e da dixestión *in vitro* con líquido ruminal e con celulasas, reportando que o poder preditivo das ecuacións baseadas en parámetros químicos era relativamente baixo (R^2 = 0,52 a 0,64), sendo lixeiramente superior para os métodos *in vitro* con líquido ruminal (R^2 = 0,66) e con celulasas (R^2 = 0,68), que eran mellorados pola combinación en ecuacións de regresión múltiples dos valores *in vitro* con líquido ruminal, MS e proteína (R^2 = 0,77) ou dos valores de dixestibilidade enzimática, PB, fibra e MS (R^2 = 0,84), mentres que a predición por NIRS mostrou un grao de precisión intermedio entre os dos dous últimos modelos (R^2 = 0,79).

Amari e Abe (1997) desenvolveron calibracións NIRS a partir dunha colección de 503 mostras de fenos, ensilaxes de herba e ensilaxes de millo (388 para calibración e 115 para validación) para estimar a composición química e a dixestibilidade (expresada como nutrientes dixestíbeis totais ou TDN). Cando os valores de referencia se obtiveron a partir de ecuacións baseadas nos contidos en fibra e proteína, a varianza explicada polos modelos NIRS en validación externa para as mostras de fenos e de ensilaxes de herba foi do 70% e o erro estándar de predición foi de ±1,5 e de ±3,8%. Para as ensilaxes de millo a bondade das predicións NIRS foi inferior, con valores de r^2< 0,50 e de SEP próximos a ±4,0%. Cando os valores de referencia de TDN procedían de ensaios *in vivo*, o valor da varianza explicada polas ecuacións NIRS se aproximaba ao 80% e os valores do SEP se mantiveron no rango de ±2,3 a ±3,4% para tódolos grupos de mostras.

Flinn e Heazlewood (2000a,b) usando 16 forraxes de Australia (7 leguminosas, 4 fenos de cereal, 2 fenos de sorgo e 3 fenos de pastos) compararon a capacidade preditiva da espectroscopía NIR con outros métodos para predicir DMS *in vivo*. A bondade da predición NIRS foi semellante á da dixestión con pepsina-celulasa, mostrando un valor do coeficiente de correlación r=0,95, e mellor que as ecuacións baseadas nos parámetros químicos FAD e PB. O comportamento de NIRS foi sorprendentemente alto, toda vez que os valores de referencia de DMO *in vivo* non foron determinados directamente senón que foron preditos a partir dos resultados da dixestión pepsina-

celulasa corrixidos por estándares de DMO *in vivo* coñecida. De la Roza *et al*. (1995) obtiveron calibracións NIRS que permitiron estimar satisfactoriamente o valor da dixestibilidade enzimática de mostras de planta enteira de millo, obtendo valores en validación cruzada de 0,91 para o coeficiente de determinación e de ±1,39% para $SECV$.

Na predición de DMO *in vitro* dunha colección de mostras de planta enteira de millo (rango 58,0-81,5%), Campo *et al*. (2010) desenvolveron calibracións NIRS con valores de $1-VR$ de 0,70 e $SECV$ de ±2,2%, obtendo en validación externa valores de 0,60 para r^2, de ±1,8% para SEP e de 1,70 para RPD, manifestando unha mediocre capacidade preditiva do modelo de predición na estimación de DMO *in vitro* de mostras independentes, inferior á observada na estimación da concentración de parámetros de composición química do mesmo conxunto de mostras, o cal se atribúe fundamentalmente á menor repetibilidade na determinación de DMO polo método de referencia. Andueza *et al*. (2011) estudaron a capacidade preditiva de NIRS para estimar a dixestibilidade *in vivo* e parámetros de composición química de forraxes pratenses utilizando unha ampla colección de mostras de gramíneas e leguminosas, considerada como representativa da variabilidade esperada en zonas temperadas e constituíndo a base das táboas de valor nutricional do INRA para estas especies. Mentres que as ecuacións desenvolvidas permitiron predicir satisfactoriamente a composición química, as ecuacións para a predición de DMO non acadaban o valor de RPD>3,0 que permitiría o seu uso en aplicacións cuantitativas, debido ao comparativamente alto erro do método de referencia na determinación do valor *in vivo*.

Williams e Sobering (1996) subliñan que ás veces é difícil obter valores de RPD>3 na predición de parámetros medidos en animais, propoñendo nestes casos utilizar RER como criterio de valoración das ecuacións de calibración e sinalando un valor umbral de RER>10 como indicativo dunha calidade aceptábel na predición. Por outra banda, os anteriores autores indicaban que nestes casos é habitualmente necesario ampliar a variabilidade nas coleccións de calibración para o cal suxiren a inclusión de forraxes moi novos e dixestíbeis e de forraxes moi maduros e pouco dixestíbeis, tanto frescos como conservados, para aumentar a variabilidade e por tanto o RPD das calibracións.

Na Táboa 18 se indican os estatísticos de calibración e validación de ecuacións NIRS para estimación da dixestibilidade e valor enerxético de distintas de forraxes, que foron tomados de diversos traballos de referencia realizados neste área de estudos.

Táboa 18.- Comparación da calidade preditiva da dixestibilidade e valor enerxético de distintas forraxes mediante NIRS

Tipo de forraxe	Parámetro	Calibración		Validación		*SD*	*RER*	*RPD*	Referencia
		R^2	*SECV*	r^2	*SEP*				
Pastos mixtos	DMO *in vivo*	0,95	-	0,93	2,51	-	-	2,53	Robert *et al.* (1986)
Cana e follas de millo	DoTT	0,91	2,52	0,88	2,24	6,43	-	2,87	Zimmer *et al.* (1990)
Palla de cereal	DMO *in vivo*	0,64	-	-	-	3,71	-	-	Givens *et al.* (1991)
Planta enteira de millo	DoNDC	0,91	1,39	-	-	4,60	18,11	3,30	De la Roza *et al.* (1995)
Ensilaxe de herba	DMO *in vivo*	0,95	1,65	0,85	2,70	7,13	27,60	2,64	Park *et al.* (1997)
Ensilaxe de millo	DMO *in vivo*	0,38	2,10	-	1,50	1,97	7,20	1,31	De Boever *et al.* (1997)
Ensilaxe de trigo	DMO *in vivo*	0,72	1,90	-	-	-	7,89	-	Adesogan *et al.* (1998)
Planta enteira de cereais	DMO *in vivo*	0,73	3,49	-	-	6,79	8,25	1,95	Bruno-Soares *et al.* (1998)
Ensilaxe de herba	DMO *in vivo*	0,78	3,45	0,79	3,01	7,20	9,14	2,10	De la Roza *et al.* (1999)
	DoNDC	0,92	2,79	0,89	2,29	9,70	17,82	3,48	
Ensilaxe de herba	DMO *in vivo*	0,90	3,37	-	-	-	8,90	-	Corson *et al.* (1999)
Planta enteira de millo	DoTT	0,98	1,78	-	-	9,55	20,80	5,37	Cozzolino *et al.* (2000)
Ensilaxe de millo	DFND	0,19	3,62	-	-	4,00	4,70	-	Lundberg *et al.* (2004)
	DoGas	0,85	1,47	-	-	3,90	15,71	-	
Ensilaxe de herba	DFND	0,69	3,93	-	-	6,90	16,96	-	Lundberg *et al.* (2004)
	DoGas	0,82	2,07	-	-	5,30	15,36	-	
Ensilaxe de millo	D_{MS}TT	0,74	1,20	-	-	2,20	-	1,83	Lovett *et al.* (2004)
Alfalfa	DoTT	0,89	2,00	0,92	2,00	-	15,00	-	Colombini *et al.* (2005)
Unifeed	DoGas	0,80	1,44	-	-	3,30	11,60	2,29	Mentink *et al.* (2006)
	DFND	0,59	3,81	-	-	6,40	7,98	1,68	
Ensilaxe de xirasol	DoTT	0,83	3,50	-	-	-	7,66	2,10	Fassio *et al.* (2007)
Planta enteira de xirasol	DoTT	0,61	2,10	-	-	-	14,76	2,80	Fassio *et al.* (2007)
Festuca	DoPC	0,93	2,26	0,91	2,27	5,18	9,60	2,28	Poblaciones *et al.* (2008)
Dactilo	DoPC	0,98	1,65	0,94	1,88	7,86	18,62	4,18	
Ensilaxe de herba	D_{MS}TT	0,60	3,60	0,54	4,50	6,90	6,16	1,53	Restaino *et al.* (2009)
Pastos mixtos	DMO *in vivo*	0,86	2,31	-	-	6,06	-	2,62	Decruyenaere *et al.* (2009)
Ensilaxe de grao de millo húmido	DoTT	0,91	2,0	-	-	-	12,50	2,40	Fassio *et al.* (2009)
Pastos e cultivos diversos	DMO *in vivo*	0,88	0,74	0,84	0,99	-	20,59	2,80	Andueza *et al.* (2011)
Ensilaxes (alfalfa, pradeira, millo)	DMO *in vivo*	0,91	2,80	-	-	-	15,07	3,30	Krizsan *et al.* (2012)
	DoTT	0,88	2,40	-	-	-	12,83	2,80	

Planta enteira de millo	DoTT	0,72	2,53	0,62	1,68	2,62	12,66	1,56	Campo *et al.* (2013)
Pastos de montaña	DoPC	0,94	3,48	-	-	14,21	-	4,08	Dale *et al.* (2013)
Pastos mixtos	DMO *in vivo*	0,92	2,07	-	2,83	6,98	-	2,47	Decruyenaere *et al.* (2015)

SD: desviación estándar; RER: relación entre o rango de valores de referencia e o erro estándar de validación cruzada ou de predición; RPD: relación entre a SD do conxunto de mostras para o valor de referencia e o erro estándar de validación cruzada ou de predición; R^2: coeficiente de determinación do modelo de calibración; $SECV$: erro estándar de validación cruzada; r^2: coeficiente de determinación en validación externa; SEP: erro estándar de predición; DMO: dixestibilidade da MO; DoTT: DMO método Tilley-Terry: DMS: dixestibilidade da materia seca; D_{MS}TT: DMS método Tilley-Terry; DoNDC: dixestibilidade enzimática da materia orgánica método Fibra Neutro Deterxente-Celulasa; DoPC: dixestibilidade enzimática da materia orgánica método Pepsina-Celulasa; DoGas: dixestibilidade da MO método produción de gas; DFND: dixestibilide da fibra neutro deterxente

1.10.3.2 Predición de parámetros de degradabilidade ruminal

Diversos autores avaliaron a capacidade de NIRS para predicir adecuadamente os parámetros de degradación ruminal de distintos alimentos. Waters e Givens (1992) compararon a capacidade de NIRS coa de ecuacións baseadas en parámetros químicos para estimar os parámetros de degradabilidade ruminal dunha colección de mostras de pastos con diferentes ciclos e estados de madurez, demostrando a potencialidade de NIRS e indicando que os datos espectrais estaban significativamente relacionados con tódolos parámetros tanto nos primeiros cortes como nos rebrotes, mentres que as ecuacións baseadas en parámetros químicos só explicaban unha proporción significativa da varianza de ditos parámetros no primeiro ciclo de crecemento do pasto. A ecuación NIRS para estimar a degradabilidade ruminal efectiva da PB ($DT_{PB,}$ valor medio 68,0 % e rango 53,0 a 74,0 %) mostrou en calibración un valor de 0,75 para R^2 e de ±3,40% para SEC, apuntando unha capacidade preditiva moderada. Similares resultados reportan Todorov *et al*. (1994) que examinaron a capacidade de NIRS para estimar a degradabilidade ruminal efectiva da MS (DT_{MS}, rango 16,9 a 80,1%) e da DT_{PB} (rango 56,9 a 80,7%) dun conxunto de mostras de forraxes de diferentes características, obtendo ecuacións de regresión para DT_{MS} e DT_{PB} con valores para o conxunto de calibración de, respectivamente, 0,93 e 0,76 para R^2 e de ±4,3 e ±3,8 % para SEC, que denotan unha aceptábel calidade da predición para a estimación da degradabilidade da MS pero non da PB.

De Boever *et al*. (1998) mostraron a superior capacidade preditiva de NIRS comparada coa de ecuacións que utilizaban como variábeis independentes parámetros químicos e data de colleita para predicir a degradabilidade ruminal da PB en mostras de pastos de gramíneas diversas, corroborando os resultados dos anteriores autores. O valor medio de

DT_{PB} e o rango de variación foi de 72,8% (51,0 a 91,2%) para as gramíneas e de 82,1% (61,8 a 90,8%) para a alfalfa. A calidade da predición foi superior para a ecuación NIRS construída para pastos de gramíneas comparado coa de mostras de alfalfa, con valores do coeficiente de determinación e erro estándar de predición en validación cruzada de, respectivamente, 0,93 e ±2,5% no primeiro grupo de mostras e de 0,93 e ±1,4% para o segundo. Herrero *et al*. (1997) indican a dificultade de predicir a taxa de degradación ruminal dos nutrientes debido, entre outros factores, á natureza exponencial dos modelos usados na súa parametrización unido a que, dado que NIRS mide indirectamente o parámetro a predicir, é dependente das imprecisións cometidas nas determinacións directas efectuadas polo método de referencia. A este respecto, a variabilidade dos valores obtidos para os parámetros de degradabilidade ruminal dun conxunto de mostras polo método de referencia dependen, ademais das súas características intrínsecas, do procedemento seguido na determinación *in situ*. Como indican Vanzant *et al*. (1998) entre outros autores, o pretratamento das mostras, o tipo de bolsas utilizadas, os animais, o tipo e nível de alimentación e as quendas ou días de determinación son factores que, entre outros, contribúen significativamente á varianza dos resultados que constituirán os valores de referencia.

A dificultade de obter estimacións precisas por NIRS da degradabilidade ruminal da FND foi comprobada por distintos estudos, como o realizado por Andrés *et al.* (2005a), que compararon a capacidade de ecuacións NIRS coas baseadas en parámetros químicos para a estimación da dixestibilidade *in vitro* e a degradabilidade *in situ* da FND dunha colección de pastos permanentes con diferentes xenotipos e estados de madurez diversos, indicando que en ambos casos a fiabilidade das predicións foi insatisfactoria para aconsellar o seu uso analítico. Unicamente se puido comprobar a utilidade das calibracións NIRS para estimar aceptabelmente a proporción de FND que desaparece no rume con tempos longos de incubación (>48 h) acadándose valores de r^2 entre 0,92 e 0,96 e de *RPD* entre 2,30 e 2,46 que permitirían o seu uso en análise cualitativo.

Ohlsson *et al*. (2007) estudaron a utilidade de NIRS para estimar os parámetros que describen a cinética de degradabilidade ruminal e a degradabilidade efectiva da MS, PB e FND dunha colección de mostras (n=61) de diferentes xenotipos de raigrás inglés e dactilo, colleitadas en diferentes estados fenolóxicos, sobre das que se tiña efectuado unha avaliación *in situ* para obter os valores de referencia. Indican que a limitación para a estimación dos parámetros $\boldsymbol{a}$, $\boldsymbol{b}$ e $\boldsymbol{c}$ é que están interrelacionados e por tanto non

poden ser calculados independentemente, polo cal a estimación directa da degradabilidade efectiva producirá mellores resultados comparada coa predición do parámetros individuais seguida do cálculo da degradabilidade efectiva usando os valores fraccionais. Os resultados do citado traballo mostraron que a predición do valor de DT_{MS} foi satisfactoria, obtendo en validación cruzada un valor de 0,98 para o coeficiente de determinación $1-VR$ e de 3,5 para o de RPD, mentres que a de DT_{PB} foi considerada como aceptábel ($1-VR$=0,78 e RPD=2,5), pero a predición para DT_{FND} foi de baixa fiabilidade ($1-VR$=0,61 e RPD=1,6), atribuíndo este feito á variabilidade existente entre animais e no laboratorio na obtención dos valores de referencia deste parámetro, suliñando a necesidade de mellorar a estandarización das determinacións *in situ*.

Foskolos *et al.* (2015) avaliaron a capacidade de NIRS para predicir os parámetros que describen a cinética de degradabilidade ruminal dunha ampla colección de mostras de alimentos para ruminantes, incluíndo forraxes (n=256), non forraxes (n=539) e materias primas de orixe animal (n=14). A calidade das ecuacións NIRS para predicir a degradabilidade efectiva e os parámetros $\boldsymbol{a}$ e $\boldsymbol{b}$ da MS, PB e FND se considerou adecuada para propósitos de clasificación preliminar ou *screening* (r^2=0,77; RPD=2,0 - 2,9), sendo nalgúns casos capaz de proporcionar predicións cuantitativas (r^2>0,84, RPD=3,1 - 4,7). De forma similar, a velocidade de degradación ($\boldsymbol{c}$) para PB e MS podía ser predita cualitativamente (RPD≥2 e ≥2,5, respectivamente) pero este parámetro para FND non foi predito con suficiente precisión (r^2<0,75 e RPD<2), confirmando a observación doutros autores a respecto da dificultade de predicir adecuadamente a cinética de degradación ruminal da parede celular. Conclúen que NIRS pode ser usado para predicir a degradabilidade efectiva e potencial da MS e PB dos alimentos de ruminantes, tanto a traveso de ecuacións universais como de ecuacións específicas para os diferentes grupos de alimentos. Aínda que algunhas predicións se viron melloradas cando se realizaban para cada grupo, reducíndose o erro de predición, globalmente os estatísticos de calidade das ecuacións foron mellores para os modelos universais que para os de forraxes e non forraxes por separado debido á maior variabilidade dos valores de referencia.

Unha síntese dos resultados de publicacións de referencia existentes na bibliografía relativas á aplicación da tecnoloxía NIRS para a estimación dos parámetros de

degradabilidade ruminal en diferentes tipos de alimentos (forraxes e *unifeed*) se mostra na Táboa 19. En xeral, en base a estes resultados, a predición do valor de DT_{MS} é máis precisa que a de DT_{PB} e a de ambos parámetros é claramente superior á de DT_{FND}, mentres que a precisión na estimación do valor da degradabilidade efectiva DT é superior ao da estimación dos parámetros $\boldsymbol{a}$ e $\boldsymbol{b}$, sendo a estimación da taxa fraccional de degradación $\boldsymbol{c}$ a menos precisa.

Táboa 19.- Comparación da calidade preditiva dos parámetros da degradabilidade ruminal de distintas forraxes mediante NIRS

Tipo de forraxe	Parámetro	Calibración		Validación		*SD*	*RER*	*RPD*	Referencia
		R^2	*SECV*	r^2	*SEP*				
Forraxes diversas	a_{MS}	0,86	4,18	-	-	-	8,60	-	Todorov *et al*. (1994)
	b_{MS}	0,78	5,17	-	-	-	5,94	-	
	DP_{MS}	0,80	5,77	-	-	-	8,08	-	
	c_{MS}	0,60	0,02	-	-	-	5,61	-	
	DT_{MS}	0,93	4,35	-	-	-	14,53	-	
	a_{PB}	0,84	7,79	-	-	-	6,08	-	
	b_{PB}	0,87	7,86	-	-	-	10,64	-	
	DP_{PB}	0,56	3,77	-	-	-	5,25	-	
	c_{PB}	0,77	0,02	-	-	-	7,04	-	
	DT_{PB}	0,67	3,86	-	-	-	6,16	-	
Ensilaxes	a_{PB}	0,78	3,88	-	-	-	7,94	2,12	De la Roza *et al*. (1998)
	b_{PB}	0,82	3,52	-	-	-	9,79	2,34	
	DP_{PB}	0,91	1,54	-	-	-	12,51	3,27	
	c_{PB}	0,45	0,04	-	-	-	5,27	1,57	
	DT_{PB}	0,87	2,23	-	-	-	8,77	1,35	
	a_{MS}	0,94	1,80	-	-	-	15,14	3,99	
	b_{MS}	0,85	2,57	-	-	-	10,36	2,83	
	DP_{MS}	0,89	2,25	-	-	-	10,64	2,96	
	c_{MS}	0,77	0,02	-	-	-	8,00	2,08	
	DT_{MS}	0,88	2,59	-	-	-	9,64	2,83	
Pastos de gramíneas	DT_{PB}	0,93	2,50	-	-	-	16,08	-	De Boever *et al*. (1998)
Alfalfa	DT_{PB}	0,93	1,40	-	-	-	19,14	-	
Ensilaxe de millo	a_{MS}	0,87	2,72	-	-	-	11,29	2,80	Swift (2003)
	b_{MS}	0,64	3,92	-	-	-	6,63	1,70	
	c_{MS}	0,19	0,01	-	-	-	4,50	1,20	
	DT_{MS}	0,60	3,80	-	-	-	4,13	1,60	
	a_{PB}	0,90	5,44	-	-	-	11,07	3,20	
	b_{PB}	0,79	6,19	-	-	-	7,71	2,20	
	c_{PB}	0,25	0,02	-	-	-	5,05	1,10	
	DT_{PB}	0,84	5,31	-	-	-	9,60	2,70	
Ensilaxe de millo	a_{MS}	0,80	2,40	-	-	4,00	-	1,67	Lovett *et al*. (2004)
	b_{MS}	0,11	6,40	-	-	7,50	-	1,17	
	c_{MS}	0,07	0,00	-	-	0,01	-	8,94	
Ensilaxes	a_{PB}	0,90	3,57	-	-	-	8,80	-	Kański e Kowalski (2005)
	b_{PB}	0,64	4,79	-	-	-	4,85	-	
	c_{PB}	0,53	0,08	-	-	-	11,00	-	
	DT_{PB}	0,88	3,50	-	-	-	9,36	-	

Pastos permanentes	a_{MS}	0,90	1,65	-	-	-	-	2,41	Andrés *et al.* (2005a)
	b_{MS}	0,61	2,74	-	-	-	-	1,39	
	c_{MS}	0,57	0,01	-	-	-	-	1,46	
	DP_{MS}	0,86	2,48	-	-	-	-	2,22	
	DT_{MS}	0,92	2,35	-	-	-	-	3,10	
Unifeed	a_{PB}	0,47	5,10	-	-	7,30	7,53	1,43	Mentink *et al*. (2006)
	b_{PB}	0,54	5,16	-	-	7,40	7,21	1,43	
	c_{PB}	0,63	1,74	-	-	3,80	9,20	2,18	
Raigrás e dactilo	a_{MS}	0,86	2,60	-	-	-	11,31	2,80	Ohlsson *et al*. (2007)
	b_{MS}	0,75	2,40	-	-	-	7,31	2,00	
	c_{MS}	0,65	0,01	-	-	-	6,56	1,70	
	a_{PB}	0,58	5,38	-	-	-	4,78	1,50	
	b_{PB}	0,45	0,05	-	-	-	3,34	1,30	
	c_{PB}	0,27	0,01	-	-	-	3,02	1,10	
	b_{FND}	0,11	7,07	-	-	-	2,19	1,10	
	c_{FND}	0,34	0,01	-	-	-	4,01	1,20	
	DT_{MS}	0,92	1,80	-	-	-	13,11	3,50	
	DT_{PB}	0,78	2,60	-	-	-	7,35	2,20	
	DT_{FND}	0,61	2,70	-	-	-	7,11	1,60	
Forraxes diversas	a_{MS}	0,91	3,00	0,84	0,03	-	13,90	3,10	Foskolos *et al*. (2015)
	b_{MS}	0,90	3,00	0,77	0,04	-	9,70	2,40	
	c_{MS}	0,79	0,01	0,73	0,01	-	11,80	2,50	
	DT_{MS}	0,89	3,00	0,80	0,03	-	9,40	2,50	
	DP_{MS}	0,92	2,00	0,84	0,03	-	10,90	3,10	
	a_{PB}	0,94	5,00	0,95	0,05	-	13,70	4,40	
	b_{PB}	0,94	6,00	0,96	0,05	-	15,10	4,70	
	c_{PB}	0,71	0,02	0,82	0,02	-	8,80	2,30	
	DT_{PB}	0,84	4,00	0,86	0,03	-	10,00	2,70	
	DP_{PB}	0,87	1,00	0,89	0,01	-	9,20	2,80	
	b_{FND}	0,73	7,00	0,77	0,09	-	7,00	2,10	
	c_{FND}	0,75	0,01	0,78	0,07	-	7,50	1,90	
	DT_{FND}	0,90	4,00	0,88	0,06	-	9,50	2,90	

SD: desviación estándar; RER: relación entre o rango de valores de referencia e o erro estándar de validación cruzada ou de predición; RPD: relación entre a súa SD do conxunto de mostras para o valor de referencia e o erro estándar de validación cruzada ou de predición; R^2: coeficiente de determinación do modelo de calibración; $SECV$: erro estándar de validación cruzada; r^2: coeficiente de determinación en validación externa; SEP: erro estándar de predición; MS: materia seca; PB: proteína bruta; FND: fibra neutro deterxente; a: fracción rapidamente degradábel (%MS); b: fracción lentamente degradábel (%MS); c: constante fraccional de degradación da fracción b no rume (h^{-1}); DP: degradabilidade potencial (a+b), %; DT: degradabilidade efectiva (%)

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

Obxectivos

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

2. OBXECTIVOS

O obxectivo xenérico da Tese de Doutoramento é contribuír á mellora da utilización das forraxes para a produción de leite de vacún en Galiza a traveso da obtención de métodos analíticos fiábeis, robustos e precisos para ser aplicados en análises de rutina para servizo ás explotacións, así como con propósito de apoio á investigación e ás actividades de selección e mellora xenética de forraxes.

O presente traballo está enmarcado no proxecto colaborativo de innovación FEADER 2013/22 titulado *Aplicacións analíticas avanzadas en forraxes para racións de vacas de leite de baixo custe e reducido impacto ambiental* levado a cabo polo LIGAL e CIAM. O citado proxecto estaba focalizado a incrementar a capacidade analítica de ambas institucións mediante a predición directa por NIRS da composición química e da dixestibilidade dun amplo rango de forraxes frescas e conservadas e de mesturas *unifeed* así como da degradabilidade ruminal e calidade fermentativa das ensilaxes máis utilizadas na alimentación das vacas de leite de Galiza.

Os obxectivos específicos son os que se indican a continuación:

a) Describir as características da composición química e dixestibilidade da materia orgánica (DMO) das principais forraxes frescas e forraxes conservadas como fenos e ensilaxes utilizadas nas explotacións leiteiras galegas.

b) Desenvolver e validar modelos preditivos NIRS para estimar a composición química e DMO das forraxes e mesturas completas comunmente usadas para a alimentación das vacas de leite.

c) Avaliar a capacidade da tecnoloxía NIRS para estimar os parámetros de degradabilidade ruminal de ensilaxes de herba e de millo.

d) Actualizar as ecuacións baseadas en parámetros químicos para a estimación da DMO de forraxes ensiladas e desenvolver novos modelos empíricos para forraxes frescas, fenos e mesturas *unifeed* así como da degradabilidade ruminal das ensilaxes de herba e de millo, comparando a súa capacidade preditiva coa obtida por NIRS.

e) Desenvolver e validar modelos de predición NIRS para estimar a calidade fermentativa de ensilaxes de herba e de millo.

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

Material e Métodos

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Material vexetal

As mostras que conforman as coleccións utilizadas para a construción das calibracións NIRS para a predición do valor nutritivo de forraxes en estado fresco proceden de explotacións gandeiras, maioritariamente de produción de leite de vacún, de diversas localidades de Galiza así como de ensaios realizados no CIAM nas fincas experimentais adscritas, representativas da zona costeira atlántica (Mabegondo-Abegondo-A Coruña) e da zona interior de Galiza (A Veiga-Pobra do Brollón-Lugo), ascendendo a un total de 4.645 mostras. As calibracións NIRS para estimar a composición química se construíron e validaron sobre un total de 3.470 mostras e, dentro deste grupo, se utilizaron 1.844 para estimar a dixestibilidade da materia orgánica e outras 84 mostras para estimar a dixestibilidade da FND mediante ecuacións empíricas e NIRS. A estimación dos parámetros de degradabilidade ruminal mediante ecuacións empíricas e NIRS se realizou sobre un conxunto de 132 mostras de ensilaxes de herba e de millo que foran avaliadas *in situ* e, finalmente, se utilizaron 1.043 mostras de ensilaxes para estimar os parámetros fermentativos mediante NIRS. Coa excepción das 125 mostras de racións *unifeed* representativas das dietas completas consumidas nas granxas de leite, as restantes mostras correspondían a forraxes, das que 2.181 eran forraxes frescas, 1.262 eran ensilaxes de herba, 996 eran ensilaxes de millo e 81 fenos de pradeira. A colección de mostras de forraxes integra unha ampla representación das diferentes tipoloxías consumidas nas explotacións leiteiras galegas, presentando unha elevada variabilidade en canto o estado de madurez, localidade, manexo agronómico e xenotipos así como de composición botánica e ciclos de crecemento, no caso da herba de pradeiras e pastos permanentes.

3.1.1 Forraxes frescas

3.1.1.1 Herba de pradeiras, pastos permanentes e cultivos de inverno de trevos anuais e as súas mesturas con raigrás

O colectivo de mostras engloba material vexetal procedente de diversos proxectos (Fernández-Lorenzo *et al*., 2007; Piñeiro *et al*., 2008; Piñeiro *et al*., 2010; Flores *et al*.,

2011a; Flores *et al*., 2011b; Piñeiro *et al*., 2011; Flores *et al*., 2012; Pereira-Crespo *et al*., 2012; Flores *et al*., 2013; Flores *et al*., 2014; Veiga *et al*., 2016; Veiga, 2019) levados a cabo por investigadores do CIAM durante 17 anos (1997-2013), realizados nas fincas experimentais e contando coa colaboración de explotacións gandeiras de diversas localidades galegas. Dentro desta poboación se inclúen mostras de herba de pradeiras sementadas e pastos permanentes cunha ampla variabilidade en canto á composición botánica, ciclos de crecemento, estados de madurez e manexo agronómico, así como mostras de trevos anuais e as súas mesturas con raigrás procedentes de distintos aproveitamentos como cultivos de inverno. Na Táboa 20 indícanse o tamaño e as características da composición botánica da colección, cun total de 1.255 mostras, das que se dispuña de datos de dixestibilidade da materia orgánica dun total de 593 mostras.

Táboa 20.- Tamaño e características da composición botánica do colectivo de mostras

Especies	Número de mostras
Pradeira mixta *(L. perenne, T. repens* e *T. pratense)*	296
Lolium multiflorum	164
Trifolium resupinatum	107
Dactylis glomerata	95
Mestura de gramíneas e leguminosas	78
Trifolium vesiculosum	75
Lolium perenne	64
Ornithopus sativus	63
Trifolium michelianum	49
Trifolium incarnatum	31
Mestura de 9 especies de *Trifolium sp*.	28
Lolium x boucheanum	25
Lolium multiflorum e *Trifolium incarnatum*	25
Trifolium repens	22
Lolium multiflorum e 5 *Trifolium* sp.	22
Festuca arundinacea	17
Lolium perenne e *Trifolium repens*	18
Trifolium pratense	16
Mestura de 5 especies de *Trifolium sp.*	15
Lolium x boucheanum e 5 especies de *Trifolium sp.*	11
Medicago sativa	10
Phalaris aquatica	7
Lolium multiflorum e Trifolium michelianum	6
Trifolium subterraneum	5
Trifolium fragiferum	2
Secale cereale	2
Biserrula pelecinus	1
Vicia sativa	1

3.1.1.2 Chícharo, triticale e as súas mesturas

As mostras proveñen de diferentes ensaios de campo desenvolvidos no CIAM entre 2002 e 2008 (Flores *et al*., 2003; Fernández-Lorenzo *et al*., 2007; Pereira *et al*., 2009; Pereira *et al*., 2010a; Pereira *et al*., 2010b). Os citados ensaios realizáronse en 2 localidades (Mabegondo e Pobra do Brollón) con diferentes xenotipos de chícharo (*Pisum sativum* L.) e triticale (x *Triticosecale* Wittm.), cultivados en monocultivo e en cultivo asociado e colleitados en diferentes estados fenolóxicos. Para este estudo se utilizou unha colección de 452 mostras (303 de chícharo, 68 de triticale e 60 da mestura chícharo e triticale en diferentes proporcións), das que 431 tiñan datos de dixestibilidade da materia orgánica.

3.1.1.3 Planta enteira de millo

As 156 mostras que conforman o colectivo de planta enteira de millo en estado fresco (129 mostras con valores de dixestibilidade da materia orgánica) procedían dos estudos de comportamento agronómico das variedades de millo forraxeiro realizada desde o CIAM no ano 2013 en catro zonas xeográficas de Galiza (Bande-Castro, 2013), así como de ensaios realizados no CIAM desde 2012 a 2018 (Botana *et al*., 2016b; Plata-Reyes *et al*., 2018; Gómez-Miranda *et al*., 2018) nas localidades de Mabegondo, Pobra de Brollón e Cartelos (Carballedo-Lugo) e mostras de explotacións gandeiras recibidas no LIGAL para a súa análise desde 2015 até 2019, procedentes de distintas localidades de Galiza.

3.1.1.4 Planta enteira e compoñentes morfolóxicos de sorgo

A poboación de sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) está formada por mostras que proveñen de diferentes traballos realizados polo CIAM desde 2012 até 2018 (Resch *et al*., 2013; Botana *et al*., 2016a; Botana *et al*., 2017; Gómez-Miranda *et al*., 2018; Pereira-Crespo *et al*., 2018a; Pereira-Crespo *et al*., 2018b) nas localidades de Mabegondo e Pobra do Brollón. A colección está constituída por 171 mostras (120, 28 e 23 mostras de planta enteira, parte vexetativa e inflorescencia, respectivamente), sendo coñecidos os valores de dixestibilidade da materia orgánica de 71 mostras.

3.1.1.5 Planta enteira e compoñentes morfolóxicos de xirasol

As mostras proveñen de diferentes ensaios realizados polo CIAM durante o ano 2004 (Pereira-Crespo *et al*., 2014) e posteriormente desde 2013 até 2017 (Flores *et al*., 2016;

Botana *et al*., 2017; Valladares *et al*., 2017; Sainz-Ramírez *et al*., 2017a; Sainz-Ramírez *et al*., 2017b; Gómez-Miranda *et al*., 2018; Sainz-Ramírez *et al*., 2020) nas localidades de Mabegondo e Pobra do Brollón. O material vexetal da colección (n=147) inclúe mostras de planta enteira de xirasol (n=14) e dos diferentes compoñentes morfolóxicos que constitúen a planta (n=133): parte vexetativa (constituída por talo e follas), capítulo (constituída por receptáculo, brácteas e inflorescencias ou sementes), talo, follas, receptáculo e froito. O conxunto de mostras con valores de dixestibilidade da materia orgánica *in vitro* coñecida era de 112.

3.1.2 Forraxes ensiladas

3.1.2.1 Ensilaxes de herba

A colección de ensilaxes de herba utilizadas no presente traballo ascendeu a 868 en total, correspondendo maioritariamente a mostras de ensilaxes de herba de pradeira, incluíndo tamén mostras de ensilaxes de triticale, de chícharo e as súas mesturas, así como de ensilaxes de trevos anuais e as súas mesturas con raigrás e de ensilaxes de alfalfa. As mostras procedían de diferentes ensaios (Flores, 2004; Veiga, 2019) realizados no CIAM desde 1997 até 2015 nas localidades de Mabegondo e Pobra do Brollón e mostras recibidas no LIGAL procedentes de explotacións leiteiras de diversas áreas xeográficas de Galiza en distintos anos. O número de mostras con datos de dixestibilidade da materia orgánica ascendía a 256, das que 31 correspondían a ensilaxes de cultivos de inverno e o resto a ensilaxes de herba de pradeira.

Outro grupo de 325 mostras das que se dispuñan de datos fermentativos, nas que estaban representadas maioritariamente ensilaxes de herba de pradeira pero que incluían tamén ensilaxes de cultivos de inverno (51 mostras), procedían de distintos ensaios realizados na estación experimental do CIAM en Mabegondo (Flores, 2004; Pereira-Crespo *et al*., 2015b; Botana, 2019) e de mostras recibidas no LIGAL para a súa análise desde 1997 até 2013.

As calibracións NIRS para predicir os parámetros de degradabilidade ruminal construíronse a partir dun conxunto de 69 mostras que foron avaliadas *in situ* durante tres proxectos de investigación realizados nas instalacións do CIAM en Mabegondo entre 2003 e 2014 con mostras procedentes de explotacións leiteiras de diferentes localidades de Galiza e de mostras producidas na propia estación experimental.

3.1.2.2 Ensilaxes de millo

A poboación de mostras de ensilaxes de millo (n=215) está constituído por mostras procedentes de diferentes ensaios realizados no CIAM entre 1997 e 2015 (Flores, 2004; Fernández-Lorenzo *et al*., 2007a; Fernández-Lorenzo *et al*., 2007b; Botana, 2019) e obtidas de cultivos realizados na estación experimental de Mabegondo e en diversas explotacións leiteiras colaboradoras, así como de mostras recibidas no LIGAL para a súa análise en diversos anos, procedentes de explotacións leiteiras de diversas zonas xeográficas de Galiza. Do total da colección, se coñecía o valor da dixestibilidade da materia orgánica de 129 mostras, dentro das que se dispuña de información adicional sobre os valores da dixestibilidade da parede celular de 84 mostras.

A construción das calibracións NIRS para a estimación dos parámetros fermentativos de ensilaxes de millo se realizou utilizando unha colección de 718 mostras, procedentes de diferentes estudos realizados no CIAM (Flores, 2004; Fernández-Lorenzo *et al*., 2007a; Fernández-Lorenzo *et al*., 2007b; Latorre, 2017) desde 1997 até 2012.

Para o desenvolvemento das ecuacións NIRS para estimar os parámetros de degradabilidade ruminal, o colectivo de mostras estaba formado por 63 mostras procedentes de explotacións leiteiras, que foron avaliadas *in situ* no decurso de dous proxectos realizados no CIAM entre os anos 2003 e 2005 e 2013 e 2015.

3.1.3 Fenos de herba

A poboación de fenos (n=81) está constituída na súa totalidade por mostras de herba secadas no campo, procedentes de pradeiras e prados de explotacións leiteiras de distintos puntos de Galiza, parte das cales se recolleron durante un proxecto realizado no CIAM entre os anos 2003 e 2004, e outra parte procede de mostras enviadas ao LIGAL para a súa análise entre os anos 2005-2015. Eran coñecidos os valores da dixestibilidade da materia orgánica de 52 mostras.

3.1.4 Mesturas *unifeed*

O colectivo de mostras (n=125) de racións completas *unifeed* proceden de explotacións leiteiras de diferentes localidades de Galiza que foron recibidas no LIGAL para a súa análise durante os anos 2005-2015 e dun ensaio de avaliación *in vivo* realizado no CIAM para a obtención de mostras de referencia. Do total da colección, se dispuña de valores de dixestibilidade da materia orgánica para 71 mostras.

3.2 Métodos analíticos de referencia

As mostras utilizadas no presente traballo se analizaron por métodos de referencia nas instalacións do CIAM para determinar a composición química, dixestibilidade *in vitro* e *in vivo* e degradabilidade *in situ*, sendo realizadas as análises fermentativas das ensilaxes no Laboratorio Agrario e Fitopatolóxico de Galicia (LAFIGA).

3.2.1 Análises químicas por vía húmida

A preparación das mostras de forraxes frescas e ensiladas e ración *unifeed* para as posteriores determinacións por vía húmida realizouse mediante secado en estufa de aire forzado (Unitherm, Russell-Lindsey Engineering, Birmingham, Inglaterra) a 80 ºC durante 16 horas (Castro, 1996) para realizar a determinación do contido en materia seca por gravimetría, sendo posteriormente moídas a 1 mm nun muíño de martelos (Christy e Norris Ltd., Chelmsford, Inglaterra). Todas as determinación analíticas se realizaron por duplicado, repetíndose a análise cando a diferenza entre resultados superaba o 5% do valor medio. Os resultados expresáronse en porcentaxe sobre MS corrixida por humidade residual. No caso das mostras de ensilaxes non se realizou a corrección do contido en materia seca pola perda de volátiles durante o secado en estufa.

Os procedementos utilizados na obtención dos valores de referencia foron os descritos a continuación:

- O contido en humidade residual das mostras secas e moídas realizouse mediante desecación a 102 ºC até peso constante.

- O contido en materia orgánica (MO) realizouse mediante a combustión en mufla a 550 ºC até peso constante.

- A proteína bruta (PB) cuantificouse a partir do nitróxeno total multiplicado por 6,25. A determinación de N total en mostras secas e moídas realizase mediante dixestión micro Kjeldahl por ebulición con ácido sulfúrico e peróxido de hidróxeno, seguida da determinación colorimétrica do ión amonio, segundo o método descrito por Castro *et al*. (1990) adaptado aos autoanalizadores de fluxo continuo AAIII (Bran+Luebbe, Analyzer Division, Norderstedt, Alemaña).

- As determinacións de fibra neutro deterxente (FND) realizáronse segundo o procedemento proposto por Van Soest *et al*. (1991), e as de fibra ácido deterxente (FAD) e celulosa (CEL) segundo Goering e Van Soest (1970). Na determinación de FND utilizase α-amilasa termoestábel (sigma A3306). Estes procedementos están adaptados ao dixestor Fibertec System modelo 1020 (Foss Tecator AB, Suecia). A determinación de lignina (LAD) realizouse sobre o residuo insoluble en deterxente ácido polo método de lignina-sulfúrico de Goering e Van Soest (1970). A determinación de fibra bruta (FB) realizouse segundo o Método Oficial nº 7 do MAPA (1995).

- Os contidos en carbohidratos solubles en auga (CSA) e non estruturais (CNET) determináronse segundo Castro (2000).

- O contido en amidón (ALM) do millo en estado fresco e ensilado e mestura *unifeed* determinouse por polarimetría segundo o método oficial nº 34 do MAPA (1995).

- O extracto etéreo (EE) determinouse polo método oficial AOAC (2003).

3.2.2 Análises de parámetros fermentativos

A análise fermentativa das mostras intactas de ensilaxes realizouse mediante métodos de referencia, por duplicado. Sobre o extracto de 50 g de mostra fresca de ensilaxe, macerada a temperatura ambiente durante 2 horas en 150 ml de auga destilada, determinouse o pH cun pHmetro provisto de eléctrodo combinado, o nitróxeno amoniacal (N-NH_3) cun eléctrodo selectivo (Orion Mettler Toledo, EEUU) e o nitróxeno solúbel (N-Solúbel) mediante dixestión macro Kjeldahl. Os ácidos de fermentación (láctico e acético) e o etanol se determinaron por cromatografía de gases (Agilent Technologies, EEUU) con una columna capilar de elevada polaridade BR-SwaxAcids (30 m x 0,53 mm x 1 µm; Bruker, EEUU) segundo o metodoloxía descrita por Stern e Endres (1991). Os parámetros de N-NH_3 e N-Solúbel referíronse ao nitróxeno total e os ácidos de fermentación e o etanol a materia seca.

3.2.3 Análises de parámetros biolóxicos

3.2.3.1 Determinación da dixestibilidade *in vivo*

As avaliacións de cada mostra problema realizáronse con un mínimo de cinco ovinos machos castrados de máis de dous anos de idade, de raza galega, aloxados en gaiolas metabólicas dotados de separadores de feces e ouriños. O deseño de ditas gaiolas, foi

realizado no CIAM polo investigador J. Castro González, e responde aos criterios de minimizar o estrés dos animais durante a realización das avaliacións, así como de facilitar o traballo dos operarios durante a alimentación e a toma de mostras. Os animais que dispoñían de bloques correctores vitamínico-mineral a libre disposición, recibiron as forraxes como único alimento. O nivel de alimentación foi *ad libitum*, axustándose a oferta para permitir un 10% de rexeites para tódalas forraxes agás os fenos de pradeira e as mesturas *unifeed*, que foron ofrecidos a nível mantemento (35 g de materia seca por kg de peso vivo metabólico inicial). O alimento foi ofrecido diariamente nunha única comida á primeira hora da maña. O período pre-experimental de adaptación ao alimento problema foi de 7 días, seguido dun período de adaptación ás gaiolas metabólicas e de axuste de inxestión voluntaria doutros 7 días de duración, onde se pesou diariamente o alimento ofrecido e rexeitado polos animais, seguido por 11 días continuados de control de inxestión voluntaria e produción de feces. Diariamente realizouse a pesada e mostraxe do alimento ofrecido e as feces producidas, así como do alimento rexeitado, no seu caso, para cada animal.

A mostraxe foi realizada unha soa vez ao día, tomándose unha alícuota do 10% do alimento ofrecido e rexeitado, e o 20 % das feces producidas para cada animal. As mostras tomadas diariamente fóronse acumulando, conxeladas a -20ºC ata a finalización de cada avaliación.

A partir dos resultados da avaliación *in vivo* se calculou para cada animal utilizado no ensaio o valor da dixestibilidade aparente *in vivo*. Para elo se utilizou a expresión $CD = \frac{\sum X_i - \sum X_e}{\sum X_i}\ x\ 100$ onde CD é o coeficiente de dixestibilidade aparente (en %), do constituínte X (MS, MO, FND), sendo $\sum X_i$ e $\sum X_e$ respectivamente, as cantidades inxeridas e excretadas polo animal de dito constituínte durante os 11 días de control que durou o ensaio.

A fin de eliminar o efecto do nivel de alimentación (NA) sobre os valores de dixestibilidade (Blaxter, 1969), os valores correspondentes a cada animal foron corrixidos a nível de mantemento (NA=1) tomado como 24 g de MO dixestíbel inxerida/kg $P^{0,75}$ segundo a expresión $CD_c = \frac{CD+10,7(NA-\ )}{1+0,113(NA-1)}$, onde CD_c é o coeficiente de dixestibilidade aparente corrixido a mantemento. O cálculo dos coeficientes de dixestibilidade aparente realizouse a partir dos resultados analíticos non corrixidos por perda de volátiles.

O número total de mostras con valores de DMO *in vivo* ascendeu a 368, tendo adicionalmente información dos valores de DFND *in vivo* para un conxunto de 84 mostras de ensilaxes de millo.

3.2.3.2 Determinación da dixestibilidade *in vitro*

A dixestibilidade *in vitro* da materia orgánica foi determinada en tódalas mostras da colección de forraxes e mesturas *unifeed* utilizada no presente traballo. Se utilizou o procedemento descrito por Tilley e Terry (1963) modificado por Alexander e McGowan (1966), utilizando como animais doantes de inóculo ruminal dúas vacas secas canuladas no rume, alimentadas a nivel de mantemento cunha dieta composta por feno de boa calidade e un concentrado a base de fariña de cebada e soia (18% PB). Todas as mostras se incubaron por duplicado, sendo repetida a análise cando a diferenza entre repeticións excedía o valor do 5% da media. A fin de controlar a variabilidade entre series de análises sucesivas, os resultados de dixestibilidade *in vitro* de cada grupo de forraxes se corrixiron utilizando un conxunto de tres mostras de referencia cuxa dixestibilidade *in vivo* era coñecida, colocados por duplicado ao comezo, na metade e ao final de cada serie. A corrección se axustou á expresión $Dx_c = \frac{Dr_m}{Dr_i} Dx_i$, onde: Dx_c é o valor da dixestibilidade *in vitro* corrixida para a mostra problema x, Dr_m é o valor medio da dixestibilidade *in vitro* das mostras de referencia nas sucesivas tandas e Dr_i é a dixestibilidade *in vitro* das mostras de referencia na tanda i. Posteriormente, os valores de dixestibilidade *in vitro* de cada mostra se expresaron como dixestibilidade *in vivo* a traveso dunha ecuación de paso ($DMO_{ij} = \alpha_i + \beta_i \, DoTT_{ij}$) onde DMO_{ij} e $DoTT_{ij}$ son os respectivos valores da dixestibilidade *in vivo* e *in vitro* da mostra j na serie i, e α_i e β_i son os coeficientes da ecuación de regresión construída para a serie i a partir dos valores *in vivo* e *in vitro* das mostras patrón de referencia.

Parte da colección de mostras dispuña dos valores de dixestibilidade *in vivo* e *in vitro*, en particular nos grupos de ensilaxes de herba e de millo. Cando se daba este caso, se mantivo o valor da DMO *in vivo* como valor de referencia, sendo utilizado o valor *in vitro* corrixido por estándares en caso contrario. Na Táboa 21 se mostra a relación do número de mostras con valores de dixestibilidade *in vivo* coñecida e *in vitro* de cada grupo de forraxes e de mesturas *unifeed* utilizados no presente traballo.

A determinación da DoTT das mostras que contiñan sementes de xirasol realizouse sobre material desengraxado para evitar o efecto depresor da graxa libre sobre a actividade microbiana do inóculo ruminal (Valdez *et al*., 1988). Este grupo non dispuña de mostras patrón de dixestibilidade *in vivo* coñecida, sendo utilizadas mostras de fenos a tal efecto.

Táboa 21.- Número de mostras con determinacións de dixestibilidade *in vivo* e de dixestibilidade *in vitro* corrixidas por estándares nos diferentes grupos de forraxes e mesturas *unifeed*

	Mostras con valor DMO determinada †		
Produto	***in vivo***	***in vitro***	**Total**
Pastos	6	587	593
Chícharo, triticale e as súas mesturas	11	420	431
Planta enteira millo	2	127	129
Planta enteira de sorgo e as súas fraccións	5	66	71
Planta enteira de xirasol e as súas fraccións	0	112	112
Ensilaxe de millo	84 ‡	45	129
Ensilaxe de herba	242	14	256
Feno de pradeira	14	38	52
Mestura *unifeed*	4	67	71

DMO: dixestibilidade da materia orgánica
† os valores de dixestibilidade *in vitro* están expresados *in vivo* mediante corrección por estándares
‡ se dispón de información sobre os valores de DFND *in vivo* destas mostras.

3.2.3.2 Degradabilidade ruminal *in situ*

A determinación da degradabilidade ruminal *in situ* realizouse mediante procesos estandarizados no CIAM (Flores *et al*., 2001). As mostras secáronse nunha estufa de aire forzado (Unitherm, Russell-Lindsey Engineering, Birmingham, Inglaterra) a 40 ºC durante 48 h, sendo determinado o contido en MS por gravimetría e posteriormente moídas a 3 mm nun muíño de martelos (Christy e Norris Ltd., Chelmsford, Inglaterra). Foron utilizadas bolsas de nailon (ANKOM®, tamaño de poro 50±15µm), cunha cantidade media de 14,7 mg de mostra por cm^2 de bolsa e tempos de incubación de 0, 4, 8, 16, 24, 48, 72 e 96 horas, durante dúas series consecutivas, no rume de tres vacas frisoas secas. As vacas foron alimentadas a nivel próximo a mantemento cunha dieta composta por feno de boa calidade, ensilado de herba e millo, e un concentrado do 25% de proteína bruta, nunha proporción (en MS) de 2/3 de forraxe e 1/3 de concentrado, sendo ofrecida a comida en dúas veces ao día, ás 10 h e as 18 h. As bolsas, suspendidas do tapón da cánula por un fío de nailon de 35 cm de lonxitude, lastráronse cun peso de aceiro inoxidábel de 400 g. Unha vez transcorrido o tempo fixado de incubación, as

bolsas somerxíanse en auga con xeo durante 10 minutos e posteriormente lavadas nunha lavadora automática con auga fría durante 30 minutos, seguido dun centrifugado suave. As bolsas correspondentes á hora cero pasaron directamente á lavadora. Unha vez lavadas, as bolsas permaneceron conxeladas até ser secadas, en estufa de aire forzado Unitherm, a 80ºC, durante 24 horas, seguido de pesada con precisión 0,1 mg tras pasar por un desecador.

Utilizando procedementos de regresión non lineal (PROC NLIN, SAS Institue, 2012), realizouse o axuste dos datos de porcentaxe de desaparición (p) de cada constituinte (MS, MO, N e FND), seguindo o modelo $p = a + b\ (1 - e^{-ct})$ de Ørskov e McDonald (1979). Obtivéronse desta forma os parámetros representativos da fracción inmediatamente degradábel (a), lentamente degradábel (b) e a velocidade de degradación no rume da fracción b (c) para cada mostra. O valor da degradabilidade efectiva ou teórica (DT) para cada constituínte (DT_{MS}, DT_{PB}, DT_{FND} en tódalas mostras e DT_{ALM} en ensilaxes de millo) se calculou segundo a expresión $DT = a + b\left(\frac{c}{c+k}\right)$ onde k é a taxa fraccional de paso do alimento polo rume, sendo considerado un valor único de 0,06 h^{-1}. O valor da degradabilidade potencial (DP) se calculou como a suma de $(a + b)$ para cada contituínte. No caso da degradabilidade da FND se considerou que o valor da fracción inmediatamente solúbel (a) era cero, co que $DT_{\text{FND}} = b\left(\frac{c}{c+k}\right)$ e $DP_{\text{FND}} = b$. Para cada mostra foron promediados os valores correspondentes ás 3 vacas e dúas series de avaliación, para cada coeficiente.

3.2.4 Erro estándar dos métodos de referencia

Para avaliar os resultados das ecuacións NIRS en relación ao erro do método de referencia, se calculou o erro estándar do método de referencia (SEL) para cada parámetro, realizado a partir da varianza entre replicados da mesma mostra segundo a fórmula $SEL = \sqrt{\frac{\sum i\left[\frac{(\sum j\,(Xij - \bar{X}j)^2}{(Rep\quad)}\right]}{n}}$ onde Xij é o replicado j da mostra i, $\bar{X}j$ é a media dos replicados da mostra i, Rep é o número de replicados e n é o número de mostras. Os valores de SEL dos métodos de referencia do presente traballo figuran na Táboa 22 (composición química e dixestibilidade *in vitro* e *in vivo*), na Táboa 23 (parámetros de calidade fermentativa de ensilaxes) e na Táboa 24 (parámetros de degradabilidade ruminal *in situ*).

Táboa 22 .- Erro estándar do método de referencia para a determinación da composición química e dixestibilidade *in vitro* e *in vivo*

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
CEL	27,69	0,96	3,45
FB	26,60	0,87	3,27
LAD	5,39	1,18	21,80
CNET	17,43	0,88	5,06
CSA	13,09	0,92	7,08
ALM	17,37	1,57	9,04
EE	1,91	0,17	8,84
Dixestibilidade (%)			
DoTT†	64,77	1,94	3,00
DMO *in vivo*	66,83	2,33	3,49
DFND *in vivo*	51,64	4,45	8,62

SEL: erro estándar de laboratorio; CV: coeficiente de variación; MS: materia seca (%); MO: materia orgánica (%MS); PB: proteína bruta (%MS); FND: fibra neutro deterxente (%MS); FAD: fibra ácido deterxente (%MS); CNET: carbohidratos non estruturais (%MS); CSA: carbohidratos solúbeis en auga (%MS); ALM: amidón (%MS); EE: extracto etéreo (%MS); DoTT: dixestibilidade da MO *in vitro* método Tilley-Terry (%); DMO: dixestibilidade da MO (%); DFND: dixestibilidade da FND
† non corrixido por estándares *in vivo*

Táboa 23.- Erro estándar do método de referencia para a determinación de parámetros de calidade fermentativa de ensilaxes

Parámetro	Media	*SEL*	*CV*
pH	4,11	0,07	1,59
LACT (%MS)	4,55	0,78	17,11
ACET (%MS)	3,55	0,41	11,45
EtOH (%MS)	1,24	0,21	16,72
N-NH_3 (% N total)	5,62	0,68	12,08
N-Solúbel (% N total)	26,42	2,06	7,79

SEL: erro estándar de laboratorio; CV: coeficiente de variación; LACT: ácido láctico; ACET: ácido acético; EtOH: etanol; N: nitróxeno; N-NH_3: N amoniacal; N-Solúbel: N solúbel

Táboa 24.- Erro estándar do método de referencia na determinación de parámetros de degradabilidade ruminal *in situ* de ensilaxes de herba e ensilaxes de planta enteira de millo

	a	b	c	DP	$DT_{(k=0,06)}$
Ensilaxes de herba					
Materia seca					
SEL	1,91	2,09	0,0101	1,31	2,22
Media	27,6	54,9	0,0573	82,6	54,1
CV	6,88	3,81	17,5	1,59	4,11
Fibra neutro deterxente					
SEL	-	1,91	0,0073	1,91	2,69
Media	-	77,85	0,0474	77,85	34,04
CV	-	2,45	15,4	2,45	7,91
Proteína bruta					
SEL	2,65	5,18	0,0156	5,12	2,59
Media	31,6	48,5	0,0694	80,1	56,6
CV	8,39	10,6	22,5	6,38	4,58
Ensilaxes de millo					
Materia seca					
SEL	1,82	3,09	0,0102	2,62	2,01
Media	44,5	41,5	0,0394	86,1	60,6
CV	4,09	7,43	25,9	3,04	3,31
Fibra neutro deterxente					
SEL	-	6,56	0,0079	6,56	3,10
Media	-	80,2	0,0286	80,2	28,2
CV	-	8,19	27,6	8,19	10,98
Proteína bruta					
SEL	2,96	5,90	0,0237	5,53	1,60
Media	70,5	19,4	0,0338	90,0	76,6
CV	4,19	30,3	69,97	6,15	2,09
Amidón					
SEL	3,28	3,44	0,0412	1,67	1,82
Media	74,0	24,0	0,1125	98,0	87,5
CV	4,43	14,3	36,6	1,71	2,08

SEL: erro estándar da determinación do parámetro polo método *in situ*; CV: coeficiente de variación; DT: degradabilidade teórica (%); k= taxa fraccional de paso no rume (h^{-1}); DP: degradabilidade potencial (%); a: fracción inmediatamente degradábel (%); b: fracción insolúbel pero potencialmente degradábel (%); c: velocidade de degradación ruminal da fracción b (h^{-1})

3.3 Análise estatística na construción das ecuacións de regresión baseadas en parámetros químicos

Para as diferentes coleccións de mostras se desenvolveron ecuacións de regresión baseadas en parámetros químicos, perseguindo os obxectivos de establecer unha base de comparación da capacidade preditiva destes modelos e os obtidos mediante a técnica

NIRS, así como de actualizar as ecuacións de predición xeradas en anteriores traballos realizados no CIAM, aplicadas á estimación do valor nutricional das forraxes máis utilizadas nas explotacións leiteiras de Galiza. As ecuacións para estimación de DMO se realizaron para cada grupo de forraxes e para a colección de mostras de mesturas *unifeed,* sendo tamén construídos modelos xerais para as coleccións de forraxes frescas e conservadas, das que foron excluídas as mostras de xirasol. Se construíron tamén modelos de regresión para estimar a dixestibilidade da parede celular para o conxunto de mostras de ensilaxes de millo das que se dispuña de valores DFND *in vivo*. As ecuacións para estimación dos valores de degradabilidade ruminal foron construídas para as coleccións de ensilaxes de herba e de millo.

Examináronse as relacións entre os valores de DMO, DFND e parámetros de degradabilidade ruminal e as determinacións de laboratorio mediante análise de correlación e de regresión linear simple e múltiple, acompañada dun proceso de regresión paso a paso, sendo seleccionados os mellores modelos uni e multivariábeis en canto a porcentaxe de varianza explicada da variábel dependente. Os procedementos utilizados foron CORR, STEPWISE, GLM e REG do paquete estatístico SAS v. 9.4 (SAS Institute, 2012).

Na construción dos modelos preditivos utilizouse un proceso secuencial de validación cruzada, no cal do conxunto de calibración era excluída secuencialmente unha das mostras, sobre a que se realizou a validación da predición a partir do modelo de calibración xerado. Repetido o proceso un número de veces igual ao número total de mostras de cada grupo, computouse o erro estándar de validación cruzada ($SECV$) a partir dos erros de estimación (e_i= diferenza entre o valor observado e o predito polo modelo) das mostras do conxunto de validación como $SECV = \sqrt{\frac{\sum e_i^2}{n-1}}$, sendo n o número total de mostras da colección. Foron excluídos os modelos cunha porcentaxe de varianza explicada en validación cruzada inferior ao 20% así como aqueles que incluían como preditores variábeis cun elevado grao de colinealidade, dado o seu efecto negativo na estabilidade dos coeficientes dos modelos de regresión, sendo aquel estimado a través das ferramentas de diagnóstico do procedemento REG de SAS.

Os modelos de predición da dixestibilidade da materia orgánica foron obxecto de validación externa, coa excepción do correspondente á colección de fenos, dado o limitado número de mostras. A tal efecto, ordenadas as mostras de cada colección polo seu valor de

dixestibilidade, cada quinta mostra se asignou ao grupo de validación independente, sendo construído o modelo preditivo sobre os catro quintos restantes. O valor do erro de predición (SEP) se calculou como o erro estándar da diferenza entre os valores observados e preditos $SEP = \sqrt{\frac{\sum {e_i}^2}{n-1}}$ e o valor do $bias$ como o valor medio da diferenza entre os valores observados e preditos ($bias = \overline{e_i}$) sendo obtido o coeficiente de determinación en validación externa (r^2) a partir da regresión lineal entre os valores observados e os preditos pola ecuación.

Os modelos de predición da degradabilidade ruminal das ensilaxes de herba e de millo non foron obxecto de validación externa, dado ao seu comparativamente reducido tamaño de datos.

3.4 Desenvolvemento de ecuacións NIRS

3.4.1 Análise e instrumentación NIRS

A información espectral das mostras se obtivo nun espectrofotómetro monocromador de espectro continuo Foss NIRSystem 6500 (Foss NIRSystem, Silver Spring, Washington, USA), situado nunha sala con temperatura controlada (24 ± 1°C).

Seguindo as recomendacións do fabricante do aparato, os controis e diagnósticos de rutina efectuados sobre o instrumento NIRS para garantir o seu correcto funcionamento consistiron na análise diaria da mostra de referencia (*check cell*) e, semanalmente, a realización das probas de repetibilidade do sinal analítico, exactitude da lonxitude de onda e medida da resposta dos detectores.

A recollida da información espectral realizouse sobre as mostras secas e moídas a 1 mm co módulo de xiro que realiza medidas de reflectancia (R) na rexión espectral comprendida entre 1100 e 2500 nm, cunha resolución espectral de 2 nm (variábeis), sendo utilizada unha cápsula circular estándar con ventá de cuarzo de 3,75 cm de diámetro (FOSS IH-0307) que posúe unha superficie de irradiación da mostras de 11,04 cm^2. Desta forma, cada un dos espectros que forman parte dos diferentes colectivos están formados por 700 variábeis espectrais. Os datos espectrais se tomaron por duplicado de cada mostra e cada espectro que se rexistraba co equipo era o promedio de 32 varridos da radiación (*scans*) sobre a mostra, sendo expresados os datos de

absorbancia como $Log\ (1/R)$. A recollida de datos espectrais e a análise quimiométrica dos datos se realizou mediante o programa WinISI II v.1.5 (Infrasoft International, Port Matilda, PA, USA, 2000).

A repetibilidade espectral dos duplicados avaliouse a través do estatístico RMS ou Raíz Cuadrática Media (*Root Mean Squared*), valor medio da raíz cadrada das diferenzas entre os espectros das 2 submostras analizadas no mesmo instrumento (Shenk e Westerhaus, 1995c), incluído no programa WinISI software version 1.50 (Infrasoft International, Port Matilda, PA, USA). Este estatístico indica a semellanza entre diferentes espectros (submostras) rexistrados dunha mesma mostra. Para asegurar unha alta repetibilidade dos datos espectroscópicos NIRS na análise por duplicado considerouse un valor límite admisíbel de RMS de 3000 $\mu log\ (1/R)$. No caso de superar o citado umbral, se realizou a repetición da recollida dos espectros da mostra.

3.4.2 Tratamento quimiométrico dos datos espectrais

Mediante o algoritmo CENTER (Shenk e Westerhaus, 1991a,b) do software WinISI, realizouse unha Análise de Compoñentes Principais, seguido do cálculo de distancias entre espectros nun espazo n-dimensional a través da distancia de Mahalanobis, a cal permitiu estudar a estrutura e variabilidade espectral da poboación e detectar mostras anómalas, sendo identificada como mostras atípicas (*outliers* espectrais) aquelas con valores GH>3 (Shenk e Westerhaus, 1991a,b). Aqueles espectros anómalos foron eliminados, repetindo o proceso de detección e eliminación de anómalos espectrais até conseguir que todas as mostras presentaran un valor de GH inferior ao valor máximo recomendado.

No presente traballo aplicáronse os seguintes pretratamentos espectrais: SNV (*Standard normal variate*); D (*Detrend*), a combinación de ambos (SNV+D) (Barnes *et al*., 1989) e W-MSC (*Weighted multiplicative scatter correction)* (Shenk e Westerhaus, 1993). Os tratamentos matemáticos avaliados foron os seguintes: 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; onde o primeiro díxito expresa a orde da derivada (1= primeira derivada, 2= segunda derivada), o segundo díxito indica o tamaño do segmento sobre o cal se realiza a derivación (intervalo expresado en nanómetros) e o terceiro e cuarto díxito indican o tamaño dos intervalos, expresados en nanómetros, utilizados para o cálculo de suavización da derivada (Shenk e Westerhaus, 1995c).

O colectivo de espectros de cada produto dividiuse de forma aleatoria (Shenk e Westerhaus, 1991b) nun grupo de calibración ao que se destinaron o 75% das mostras seleccionadas aleatoriamente, sendo o resto das mostras asignando a un segundo grupo de validación externa que contiña o 25% das mostras totais. Como se indicou no apartado anterior, non foron obxecto de validación externa os modelos de predición de DMO para a colección de fenos e os modelos de predición dos parámetros de degradabilidade ruminal das ensilaxes de herba e de millo, debido ao seu reducido tamaño.

As ecuacións de calibración foron xeradas por regresión de mínimos cadrados parciais modificada (MPLS, Martens e Naes, 1987) entre os datos espectrais e os valores de referencia, aplicándose o procedemento de validación cruzada para determinar o número óptimo de termos da ecuación e para identificar os anómalos químicos. Se incluíron catro grupos de validación cruzada para previr o sobreaxuste, que foron secuencialmente utilizados para efectuar a validación das ecuacións xeradas. Ademais, durante o proceso de desenvolvemento de cada ecuación de calibración aplicáronse como máximo 2 etapas de eliminación de anómalos químicos (T>2,5; Mark e Workman, 2003).

3.4.3 Selección das ecuacións de calibración NIRS e avaliación da súa capacidade preditiva

Con carácter xeral, se elixiron os modelos de calibración en base aos menores valores do erro estándar de calibración (SEC) e de validación cruzada ($SECV$) e aos maiores valores do coeficiente de determinación en calibración (R^2) e en validación cruzada ($1-VR$), como indican Shenk e Westerhaus (1996). En validación externa se calcularon o valor do coeficiente de determinación r^2, o erro estándar de predición (SEP) e o valor de SEP corrixido por bias (SEP_c) (Williams e Sobering, 1996; Saeys *et al*., 2005). Os valores dos respectivos coeficientes de determinación se tomaron como indicadores da precisión dos modelos de calibración. Posteriormente, a fiabilidade das ecuacións se avaliou usando o valor de RPD, calculado para o conxunto de validación cruzada e, no seu caso, de validación externa.

Seguindo a Shenk e Westerhaus (1996) e Shenk *et al*. (2001) se considerou que valores do coeficiente de determinación en validación cruzada ($1-VR$) de 0,90 e superiores proporcionaban un axuste excelente, entre 0,70 e 0,89 a calidade do axuste era boa,

mentres que valores entre 0,50 e 0,69 só permitían realizar unha clasificación cualitativa básica, en valores alto, medio e baixo do parámetro a predicir. Por outra banda, en base ao valor do ratio RPD en validación cruzada se considerou, seguindo a Williams (2001) que os modelos con valores de RPD < 1,5 presentan baixa capacidade preditiva e non son de utilidade; se o valor RPD está entre 1,5 e 2,0 a predición se considera aceptábel; para valores de RPD entre 2,5 e 3,0 a predición é de boa calidade e para os modelos con valor RPD > 3,0 a predición se considera excelente.

Para o proceso de validación externa, de acordo co indicado por Shenk e Westerhaus, (1991b) e Shenk *et al*. (2001), se considerou que unha ecuación NIRS é robusta e fiábel, podendo ser utilizada en rutina cando se cumpren as seguintes condicións: a) o valor do $bias$ é menor dun valor umbral de ± 0,60 SEC; b) o valor de SEP_c é menor que un valor umbral de 1,3 veces SEC; c) o valor de r^2 e maior de 0,60; d) o valor da pendente da recta de regresión entre os valores observados e preditos está dentro do rango 0,9 a 1,1 e f) o valor de RPD é maior de 2,0. Na predición de DMO, DFND e parámetros de degradabilidade ruminal, se considerou, como criterio adicional aos anteriores, que un valor do estatístico RER>10 nas mostras de validación indicaba unha boa calidade da predición e podía ser usada a ecuación para análise cuantitativo (Williams, 2014).

Resultados

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

4. RESULTADOS

4.1 Modelos preditivos para determinar o valor nutricional de forraxes en estado fresco

4.1.1 Modelo xeral para forraxes en estado fresco

4.1.1.1 Ecuacións empíricas

Valores medios da colección

Na Táboa 25 se resumen os valores medios e medidas de dispersión dos datos de composición química (MO, PB, FND e FAD) e dixestibilidade (DMO) da colección de mostras de forraxes frescas utilizadas no presente traballo para avaliar o comportamento de ecuacións universais construídas a partir de parámetros químicos na estimación do valor de DMO. O total da colección ascende a 1.224 mostras coa información completa para os parámetros citados. Da mesma se excluíron as mostras correspondentes á colección de xirasol e as súas fraccións dadas as súas especiais características, correspondendo o resto das mostras a pastos frescos (593), cultivos de inverno (431), planta enteira de millo (129) e planta enteira de sorgo e as súas fraccións (71).

Táboa 25.- Composición química e dixestibilidade da materia orgánica da colección total de mostras de forraxes frescas utilizadas para a obtención de ecuacións empíricas para a predición de DMO

Parámetro	n	Media	*SD*	*CV*	Max	Min
MO	1224	90,8	3,5	3,9	98,3	75,0
PB	1224	13,8	6,1	44,2	31,2	3,2
FND	1224	43,8	10,9	25,0	79,2	14,5
FAD	1224	30,0	6,0	20,1	48,1	13,0
DMO	1224	71,1	7,0	9,8	87,3	48,2

MS: materia seca; MO: materia orgánica (%MS); PB: proteína bruta (%MS); FND: fibra neutro deterxente (%MS); FAD: fibra ácido deterxente (%MS); DMO: dixestibilidade da materia orgánica (%); n: número de mostras; SD: desviación estándar; CV: coeficiente de variación; Max: valor máximo; Min: valor mínimo

Os valores medios (e rango de variación) da composición química, en %MS, foron MO: 90,8 (75,0 a 98,3), PB: 13,8 (3,2 a 21,2), FND: 43,8 (14,5 a 79,2) e FAD: 30,0 (13,0 a 48,1), mostrando a ampla variabilidade da colección. O valor medio de DMO foi 71,1%, oscilando o seu rango entre 48,2 e 87,3%. A maior variabilidade correspondeu ao contido en PB (CV=44,2%) seguido dos contidos de FND e FAD (CV=25,0 e 20,1%,

respectivamente) e a menor ao contido en MO (CV=3,9%). Comparativamente, a variabilidade da DMO se situou nun nivel inferior á observada para os constituíntes químicos, coa excepción da MO, cun valor do CV de 9,8%.

Correlacións entre composición química e dixestibilidade

Como se indica na Táboa 26, o parámetro de composición química que mostrou unha maior correlación co valor de DMO da colección de forraxes frescas foi o contido en FND, seguido do contido en FAD, sendo ambas significativas (p<0,001) e de signo negativo (r= -0,71 e -0,64 respectivamente). A concentración de PB da colección de mostras de forraxes frescas se correlacionou positivamente coa dixestibilidade (r= 0,49), mentres que o contido en MO o fixo de forma negativa (r= -0,41), sinalándose en ambos casos o escaso valor do coeficiente de correlación, aínda que esta foi significativa (p<0,001). Os resultados reflicten parcialmente o efecto do proceso de maduración das plantas, onde co avance da madurez a dixestibilidade tende a reducirse en paralelo coa diminución do contido en proteína e do incremento da fracción fibra e do contido en cinzas. Neste sentido, aparte da correlación positiva entre FND e FAD (r= 0,65), o contido en PB se correlacionou negativamente con ambas fraccións (r= -0,75 e -0,34, respectivamente) e o contido en MO se correlacionou tamén positivamente co valor de FND (r= 0,45) e negativamente co valor de PB (r= -0,56), sendo as mencionadas asociacións altamente significativas (p<0,001).

Táboa 26.- Matriz de correlacións entre parámetros de composición química e dixestibilidade da materia orgánica do total da colección universal de mostras de forraxes frescas utilizadas para a obtención de ecuacións empíricas

		Forraxes frescas (n=1224)			
		PB	**FND**	**FAD**	**DMO**
MO	***r***	-0,56	0,45	0,05	-0,41
	p	***	***	*NS*	***
PB	***r***	-	-0,75	-0,34	0,49
	p		***	***	***
FND	***r***	-	-	0,65	-0,71
	p			***	***
FAD	***r***	-	-	-	-0,64
	p				***

MS: materia seca; MO: materia orgánica (%MS); PB: proteína bruta (%MS); FND: fibra neutro deterxente (%MS); FAD: fibra ácido deterxente (%MS); DMO: dixestibilidade da materia orgánica (%); *r:* coeficiente de correlación de Pearson; *p*: significación (*** p<0,001; ** p<0,01; * p<0,05; *NS p>0,05:* non significativo)

Ecuacións de predición de DMO baseadas en parámetros químicos

Os mellores modelos universais baseados en parámetros químicos para a predición da dixestibilidade da materia orgánica do conxunto de mostras de forraxes frescas se mostran na Táboa 27 e os correspondentes estatísticos de calibración e validación cruzada e externa se mostran na Táboa 28. As ecuacións están ordenadas pola porcentaxe de varianza explicada en calibración en orde decrecente, mostrándose unicamente os tres modelos co maior valor de R^2. A mellor ecuación, que integraba os contidos de MO, PB e FAD nun modelo cuadrático, conseguiu explicar un 63% da varianza en validación cruzada cun erro de predición ($SECV$) de ±4,2% e mostrou un razoábel comportamento na estimación da DMO do conxunto de mostras independentes, explicando un 60% da varianza (r^2= 0,60) cun erro de predición SEP de ±4,3%. As outras dúas ecuacións seleccionadas, que utilizaban FAD e PB ou FND e PB como preditores, integrados nun modelo cuadrático en ambos casos, tiveron un comportamento preditivo de similar calidade, mostrando en validación cruzada valores de 0,53 para $1 - VR$, de ±4,75 e ±4,76% para $SECV$ e valores de 0,50 e 0,47 para r^2 e de ±5,02 e ±5,01% para SEP en validación externa. Os valores do estatístico RPD_{vc} en validación cruzada oscilaron entre 1,66 e 1,47 e en validación externa entre 1,60 e 1,39, correspondendo os valores máis altos ao primeiro modelo seleccionado.

Shenk *et al*. (2001) indican que valores do coeficiente de determinación en validación cruzada ($1 - VR$) no rango 0,50 a 0,69 só permitirían realizar unha predición cualitativa básica, mentres que Williams (2001) indican que valores de RPD entre 1,5 e 2,0 só permiten distinguir entre valores altos e baixos da variábel a predicir. Atendendo a estes criterios unicamente sería de certa utilidade preditiva o primeiro modelo seleccionado para clasificar as mostras problema en rangos de dixestibilidade.

Sen embargo, aplicando os criterios de Shenk *et al.* (2001) e de Shenk e Westerhaus (1991b), se observa que os valores de r^2 están no límite de aceptabilidade (0,60) e o valor de SEP é inferior a 2 veces o erro estándar do método de referencia (SEL entre ±2,0 e ±2,3% para DMO), o cal unido a un bo comportamento do $bias$ (0,48) situado dentro do intervalo ±0,60 SEC e da pendente (0,97) situada asi mesmo dentro do intervalo 0,90 a 1,10 suxiren unha certa utilidade en análises de rutina para a ecuación, aínda que cunha limitada precisión.

Táboa 27.- Ecuacións universais baseadas en parámetros químicos para a predición da dixestibilidade da materia orgánica da colección de mostras de forraxes frescas

Modelo	Ecuación							
FR1	DMO =	-147,65	+4,97 MO	+1,13 PB	+1,52 FAD	-0,0030 FAD^2	-0,0301 MO^2	-0,022 FAD^2	-0,0446 PB x FAD
	s.e.	*±57,2*	*±1,29*	*±0,117*	*±0,205*	*±0,0002*	*±0,0071*	*±0,0027*	*±0,0041*
	P	**	***	***	***	***	***	***	***
FR2	DMO =	40,57	+1,53 FAD	+2,43 PB	-0,0261 PB^2	-0,0256 FAD^2	-0,0475 PB x FAD		
	s.e.	*±4,26*	*±0,233*	*±0,225*	*±0,0046*	*±0,0031*	*±0,0049*		
	P	***	***	***	***	***	***		
FR3	DMO =	112,15	-1,14 FND	-0,60 PB	+0,0146 PB^2	0,0069 FND^2			
	s.e.	*±2,56*	*±0,102*	*±0,114*	*±0,0039*	*±0,0010*			
	P	***	***	***	***	***			

DMO: dixestibilidade *in vivo* da materia orgánica (%); MS: materia seca; MO: materia orgánica (%MS); PB: proteína bruta (%MS); FAD: fibra ácido deterxente (%MS); FND: fibra neutro deterxente (%MS); s.e.: erro estándar do coeficiente; *P:* significación (*** *P*<0,001; ** *P*<0,01; * *P<0,05; NS* non significativo *P*>0,05)

Táboa 28.- Estatísticos de calibración e validación das ecuacións universais baseadas en parámetros químicos para a predición da dixestibilidade da materia orgánica das mostras de forraxes frescas

Modelo	Calibración		Validación cruzada		Validación externa					
	R^2	SEC	1-VR	SECV	Grupo de validación	r^2	SEP	SEPc	Bias	Pend
FR1	0,63	4,19	0,63	4,20	Mostras frescas	0,60	4,37	4,34	0,480	0,971
P	***		***			***				
FR2	0,53	4,76	0,53	4,76	Mostras frescas	0,47	5,01	4,97	0,587	0,917
P	***		***			***				
FR3	0,53	4,74	0,53	4,75	Mostras frescas	0,50	5,02	5,02	-0,068	1,001
P	***		***			***				

R^2: coeficiente de determinación do modelo de calibración; SEC: erro estándar de calibración; 1-VR: coeficiente de determinación en validación cruzada; SECV: erro estándar de validación cruzada; r^2: coeficiente de determinación en validación externa; SEP: erro estándar de predición; SEPc: erro estándar de predición corrixido por bias; Bias: diferencia media entre os valores observados e os preditos pola ecuación; Pend: pendente da regresión entre valores observados e preditos pola ecuación; *P:* significación (*** *P*<0,001; ** *P*<0,01*;* * *P*<0,05*; NS* non significativo *P*>0,05)

4.1.1.2 Ecuacións NIRS para a predición da composición química e DMO

Na Táboa 29 se mostran os valores da media, desviación estándar, coeficiente de variación e o rango de valores para a composición química e a DMO do grupo de calibración e validación externa das coleccións de mostras de forraxes frescas que se utilizaron para o desenvolvemento das ecuacións NIRS, así como os estatísticos de calibración e validación cruzada e externa. Para ambos grupos e expresados en %MS, os valores medios (e rango de variación) dos constituíntes químicos foron, respectivamente, MO: 91,1 (75,0 a 98,3) e 91,2 (79,3 a 97,8), PB: 13,4 (3,2 a 31,2) e 13,8 (3,8 a 30,3), FND: 44,7 (14,5 a 79,2) e 46,6 (20,3 a 78,7), FAD: 29,8 (13,0 a 48,1) e 30,0 (14,3 a 44,3), CNET: 22,0 (2,8 a 59,0) e 18,7 (2,2 a 56,8), CSA: 15,7 (1,9 a 47,8) e 15,4 (3,2 a 48,5) e ALM: 16,8 (0,0 a 47,2) e 16,6 (0,0 a 43,5). O valor medio de DMO no grupo de calibración foi de 71,2 % (rango de 48,2 a 87,3%) e no grupo de validación independente foi tamén de 71,2 % (rango de 53,8 a 87,3%). Mantense unha elevada variabilidade para tódolos parámetros en ambos colectivos, reflectindo a diversidade de xenotipos, ciclos, estados de madurez e condicións ambientais das mostras que conforman a colección de mostras de forraxes en estado fresco.

O número de mostras anómalas eliminadas, expresadas en porcentaxe do total das mostras iniciais, oscilou entre 2,4 e 3,9% nas calibracións NIRS para estimación de parámetros químicos, sendo do 2,0% na construción do modelo preditivo para DMO, todos eles claramente por debaixo do valor máximo do 20% recomendado por Shenk e Westerhaus (1995a) no desenvolvemento de ecuacións de calibración NIRS.

Os modelos de predición obtivéronse con SNV+D como pretratamento espectral para corrixir o efecto da dispersión da luz, sendo optimizados polo uso da segunda derivada do espectro para tódolos parámetros coa excepción do contido en amidón, no que o uso da primeira derivada proporcionou mellores resultados.

Os coeficientes de determinación ($1 - VR$) e os erros de predición ($SECV$) no proceso de validación cruzada foron, respectivamente, de 0,88 e ±1,12% para MO, de 0,98 e ±0,90% para PB, de 0,97 e ±2,10% para FND, de 0,94 e ±1,50% para FAD, de 0,97 e ±1,73% para CNET, de 0,97 e ±1,25% para CSA, de 0,99 e ±1,32% para ALM e de 0,91 e de 2,17% para DMO. O ratio $SECV/SEC$ oscilou entre 1,04 e 1,12 o que o sitúa dentro do intervalo entre 0,5 e 1,5 sinalado por Burns e Ciurczak (1992) como indicativo de calibracións NIRS robustas.

Segundo o criterio definido por Shenk *et al*. (2001) para xulgar a calidade do axuste das ecuacións en función do valor do coeficiente de determinación en validación cruzada, esta foi excelente ($1 - VR \geq 0{,}90$) para a predición de tódolos parámetros agás para a ecuación de predición do contido en MO, que foi categorizada como boa ($1 - VR$ entre 0,70 e 0,89). Atendendo aos criterios de Williams (2014) e de Williams e Sobering (1996) para xulgar a calidade preditiva das ecuacións en base aos valores de RPD_{vc} e RER_{vc} en validación cruzada, aquela foi boa (RPD_{vc}>3 e RER_{vc}>10) para tódolos parámetros, o que permitiría realizar a predición cuantitativa da composición química e do valor de DMO para coleccións de mostras de composición semellante ao grupo de calibración, atendendo aos resultados do proceso de validación cruzada.

A representación gráfica dos valores de referencia e dos valores preditos cando se aplican os modelos de calibración NIRS sobre un conxunto de mostras independentes se mostra nas Figuras 1a e 1b (parámetros químicos) e na Figura 2 (dixestibilidade da materia orgánica). Os valores do coeficiente de determinación r^2 e do erro de predición SEP foron, respectivamente, de 0,79 e ±1,53% para MO, de 0,96 e ±1,06% para PB, de 0,96 e ±2,28% para FND, de 0,93 e ±1,61% para FAD, de 0,96 e ±1,96% para CNET, de 0,97 e 1,59% para CSA, de 0,99 e 1,63% para ALM e de 0,85 e ±2,69% para DMO.

Atendendo aos criterios de Williams (2014) e de Williams e Sobering (1996) a calidade preditiva dos modelos de calibración en base aos valores de RPD_{ve} e RER_{ve} en validación externa foi boa (RPD_{ve}>3 e RER_{ve}>10) para PB, FND, FAD, CNET, CSA e ALM, permitindo nestes casos unha predición cuantitativa, mentres que a predición de MO sería dunha calidade mediocre (RPD_{ve} entre 2 e 2,5) permitindo unicamente unha clasificación básica de valores (altos, medios e baixos). No caso da ecuación para a predición de DMO a súa calidade sería aceptábel (RPD_{ve} entre 2,5 e 3,0) o que permitiría unha predición cualitativa en rangos. Sen embargo, como indican Williams e Sobering (1996) para o caso das ecuacións de predición de parámetros biolóxicos con valores de RPD próximos a 3, cando o estatístico RER é superior a 10 pode considerarse que a ecuación pode ser útil para a predición cuantitativa, o cal é o caso da ecuación NIRS para a predición de DMO no conxunto de mostras de forraxes en estado fresco.

A validez das ecuacións para xulgar acerca da súa robustez e fiabilidade en análises de rutina sobre mostras externas, seguindo a Shenk *et al*. (2001) e Shenk e Westerhaus (1991b), indicaron a robustez dos modelos de predición de PB, FND, FAD, CNET e

DMO, para os que se cumpriron os criterios dos autores citados (r^2 ≥0,60; $bias$ =±0,60 SEC; SEP_c ≤1,30 SEC e pendente entre 0,9 e 1,1), mentres que para as ecuacións de predición de MO, CSA e ALM o valor do erro de predición corrixido por $bias$ (SEP_c) excedeu o valor límite, indicando que parte da variabilidade do conxunto de mostras independentes non estaba debidamente recollido no conxunto de mostras onde se desenvolveu o modelo de calibración. No caso de CSA e ALM, as diferenzas son pequenas, o que indica a posibilidade de utilizar tamén ditas ecuacións na predición de estes dous parámetros, con relativa confianza, sobre mostras independentes de forraxes frescas.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

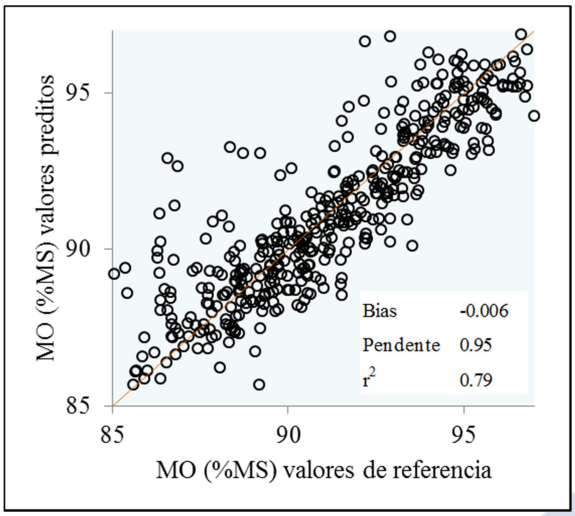
Táboa 29.- Estatísticos de calibración e validación cruzada das ecuacións NIRS para estimación da composición química e da dixestibilidade da materia orgánica da colección de mostras de forraxes frescas

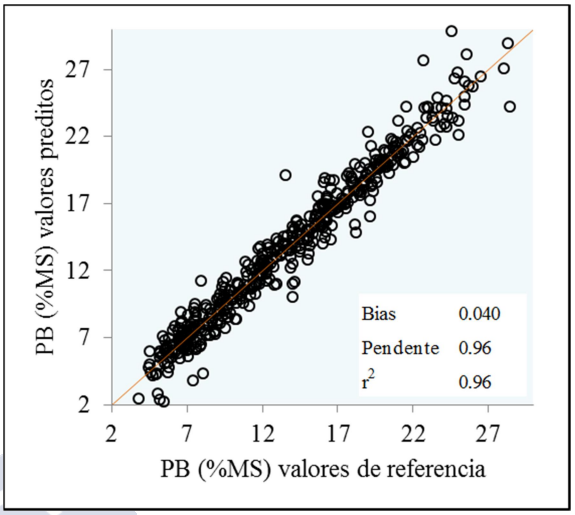
Parámetro	Scatter	Tratamento matemático	Calibración										Validación cruzada			
			n	Outliers	T	Media	SD	Min	Max	Rango	R^2	SEC	1-VR	SECV	RPDvc	RERvc
MO	SNV+D	2,6,4,1	997	24	14	91,1	3,7	75,0	98,3	23,2	0,90	1,06	0,88	1,12	3,3	20,7
PB	SNV+D	2,10,5,1	997	16	13	13,4	6,1	3,2	31,2	28,0	0,98	0,87	0,98	0,90	6,7	31,1
FND	SNV+D	2,5,5,1	997	19	13	44,7	11,3	14,5	79,2	64,7	0,97	2,01	0,97	2,10	5,4	30,8
FAD	SNV+D	2,5,5,1	997	18	14	29,8	6,0	13,0	48,1	35,1	0,94	1,43	0,94	1,50	4,0	23,5
CNET	SNV+D	2,4,4,1	638	25	14	22,0	9,9	2,8	59,0	56,2	0,97	1,57	0,97	1,73	5,8	32,6
CSA	SNV+D	2,4,4,1	883	22	15	15,7	8,3	1,9	47,8	45,9	0,97	1,18	0,97	1,25	6,7	36,7
ALM	SNV+D	1,6,4,1	233	7	11	16,8	13,1	0,0	47,2	47,2	0,99	1,18	0,99	1,32	9,9	35,8
DMO	SNV+D	2,5,5,1	910	19	12	71,2	7,0	48,2	87,3	39,1	0,92	2,05	0,91	2,17	3,2	18,1

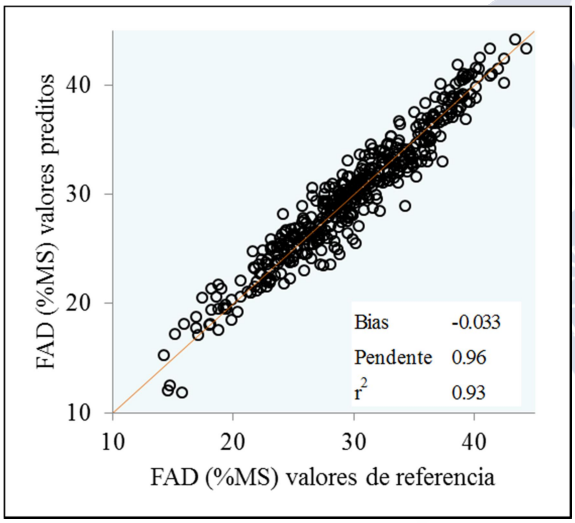
Parámetro	Validación externa														
	n	Media	SD	Min	Max	Rango	r^2	SEP	SEPc	Bias	Pend.	RPDve	RERve	GH	NH
MO	446	91,2	3,3	79,3	97,8	18,5	0,79	1,53	1,52	-0,01	0,95	2,1	12,1	0,93	0,22
PB	446	13,8	5,8	3,8	30,3	26,5	0,96	1,06	1,07	0,04	0,96	5,4	25,0	0,93	0,22
FND	446	46,6	11,2	20,3	78,7	58,5	0,96	2,28	2,28	0,11	1,00	4,9	25,7	0,93	0,22
FAD	446	30,0	5,9	14,3	44,3	30,1	0,93	1,61	1,61	-0,03	0,96	3,7	18,7	0,93	0,22
CNET	322	18,7	10,1	2,2	56,8	54,6	0,96	1,96	1,95	0,18	0,98	5,2	27,9	0,93	0,22
CSA	349	15,4	8,6	3,2	48,5	45,2	0,97	1,59	1,59	0,05	0,98	5,4	28,5	0,89	0,22
ALM	81	16,6	13,1	0,0	43,5	43,5	0,99	1,63	1,63	-0,03	1,03	8,1	26,7	1,12	0,26
DMO	308	71,2	6,8	53,8	87,3	33,5	0,85	2,69	2,70	0,01	0,94	2,5	12,4	0,85	0,21

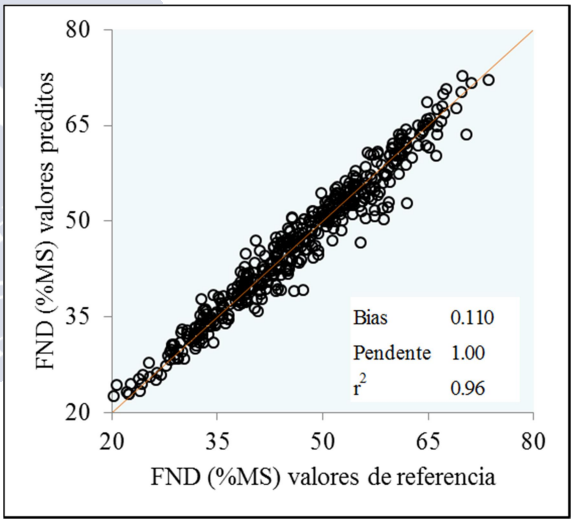
SNV+D: standard normal variate+detrend; n: número de observacións; Outliers: número de mostras anómalas eliminadas; T: número de factores da regresión; SD: desviación estándar; Min: valor mínimo; Max: valor máximo; SEC: erro estándar de calibración; R^2: coeficiente de determinación do modelo de calibración; SEC: erro estándar de calibración; 1-VR: coeficiente de determinación en validación cruzada; SECV: erro estándar de validación cruzada; RPDvc: ratio entre a desviación estándar e o erro de predición en validación cruzada; RERvc: ratio entre rango de valores e o erro de predición en validación cruzada; r^2v: coeficiente de determinación en validación externa; SEP: erro estándar de predición; SEPc: erro estándar de predición corrixido por bias; Bias: diferencia media entre os valores observados e os preditos pola ecuación; Pend: pendente da regresión; RPDve: ratio entre a desviación estándar e o erro de predición en validación externa; RERve: ratio entre rango de valores e o erro de predición en validación externa; GH e NH: distancias de Mahalanobis; MS: materia seca; MO: materia orgánica (%MS); PB: proteína bruta (%MS); FND: fibra neutro deterxente (%MS); FAD: fibra ácido deterxente (%MS); CNET: carbohidratos non estruturais totais (%MS); CSA: carbohidratos solúbeis en auga (%MS); ALM: amidón (%MS); DMO: dixestibilidade da materia orgánica (%)

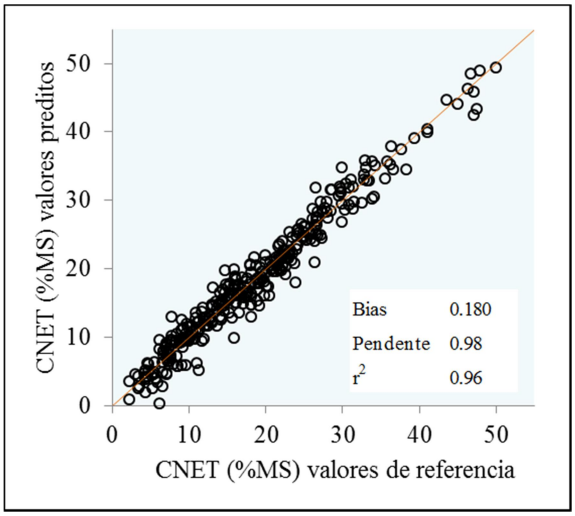
Figura 1a.- Plot de valores de composición química medidos polos métodos de referencia e de valores preditos polas ecuacións NIRS para a colección de mostras de forraxes frescas











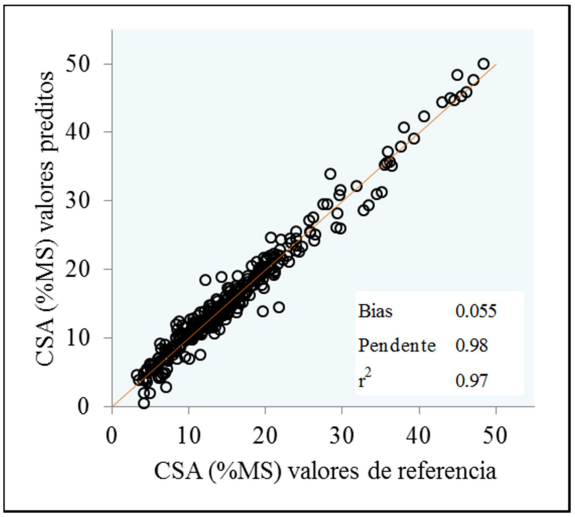


Figura 1b.- Plot de valores de composición química medidos polos métodos de referencia e de valores preditos polas ecuacións NIRS para a colección de mostras de forraxes frescas (Continuación)

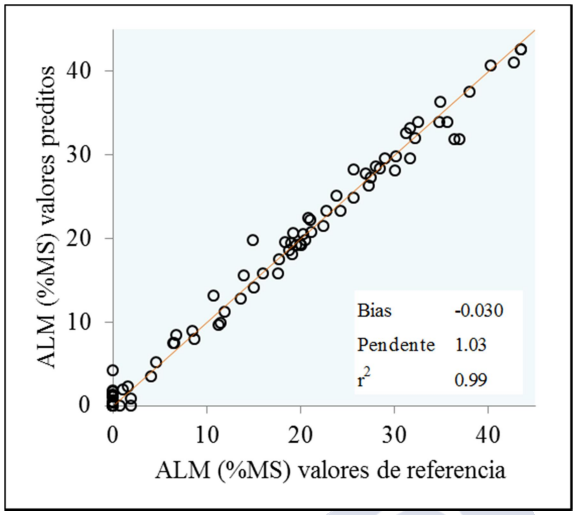
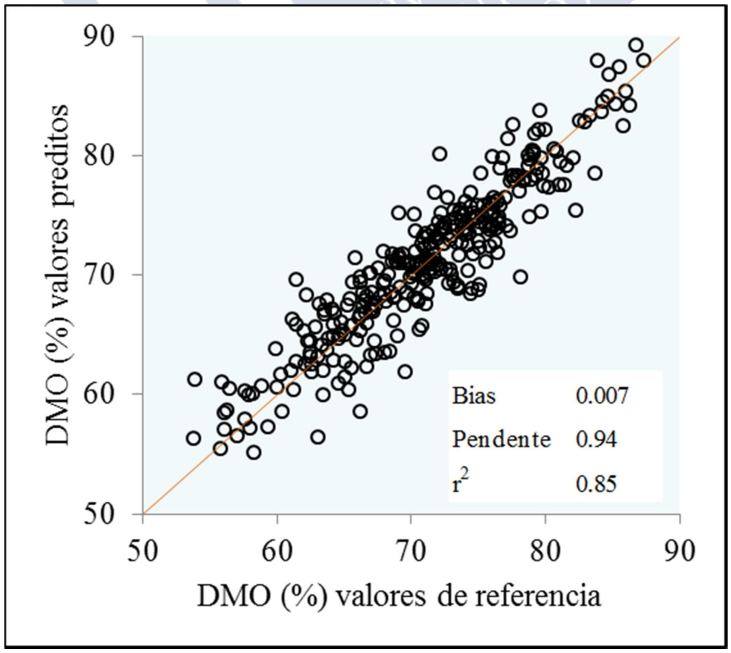


Figura 2.- Plot de valores de dixestibilidade da materia orgánica medidos polo método de referencia e de valores preditos polas ecuacións NIRS para a colección de mostras de forraxes frescas



4.1.2 Pastos frescos

4.1.2.1 Ecuacións empíricas para a predición de DMO

Valores medios da colección

Na Táboa 30 se mostran os valores medios e os estatísticos de dispersión da composición química e a dixestibilidade da materia orgánica do conxunto de mostras que conforman o colectivo de pastos frescos, e dos subgrupos de especies gramíneas e leguminosas. A poboación está constituída por 374 mostras de gramíneas, 425 de leguminosas e 456 de mesturas de gramíneas e leguminosas. Os valores medios e desviación estándar (en %MS) de toda a colección foron 89,7±2,9 para MO, 15,0±5,7 para PB, 30,1±6,2 para FAD, 46,8±11,4 para FND, 19,5±11,0 para CNET e 14,8±8,9 para CSA, sendo de 73,8±6,7% para DMO.

A variabilidade dos parámetros de composición nutricional, medida a traveso do coeficiente de variación (CV) e do rango (valores mínimo e máximo, en %MS) da colección foi, respectivamente, moi alta para o contido en carbohidratos solúbeis en auga (CV 60,0%, rango 0,9 a 48,5% MS) e en carbohidratos non estruturais totais (CV 56,4%, rango 2,9 a 50,1% MS) seguidos do contido en proteína (CV 38,1%, rango 3,2 a 33,1%), de paredes celulares (CV 24,3%, rango 13,0 a 72,0% MS) e de lignocelulosa (CV 20,4%, rango 10,8 a 48,1% MS), reflectindo o forte efecto dos factores ambientais, ademais dos xenotípicos e do estado de madurez, sobre estes parámetros. No extremo oposto, o contido en materia orgánica foi pouco variábel (CV 3,3%, rango 75,0 a 96,5% MS), mentres que a DMO, que oscilou nun rango entre 49,1 a 87,3% mostrou un valor do coeficiente de variación de 9,1%, intermedio entre o dos grupos anteriores.

Considerando o conxunto de especies e variedades de cada familia, se observa que as leguminosas teñen de media, comparadas coas gramíneas, valores superiores de cinzas, proteína e dixestibilidade e menores de paredes celulares e carbohidratos non estruturais, sendo moi semellantes os valores da fracción lignocelulósica. Para as coleccións de gramíneas e leguminosas, respectivamente, os valores medios (en %MS) foron de 90,5 e 88,9 para MO, de 12,6 e 17,6 para PB, de 29,5 e 28,7 para FAD, 51,9 e 37,4 para FND, de 21,8 e 17,1 para CNET e de 19,7 e 12,5 para CSA, mentres que para DMO os respectivos valores foron de 72,3 e 75,4%.

A composición nutricional media da colección de mesturas de gramíneas e leguminosas mostrou valores medios (en %MS) de 89,8 para MO, de 14,2 para PB, de 32,5 para FAD, de 52,8 para FND, de 16,0 para CNET e de 12,7 para CSA. O valor medio de DMO (68,8%) foi inferior ao dos dous grupos anteriores, en consonancia co maior contido en fibra e menor contido en proteína respecto destes, reflectindo probabelmente as diferenzas entre xenotipos e estados de madurez das mostras das mesturas no momento da recollida, sen descartar outros posíbeis efectos ambientais.

Táboa 30.- Composición química e dixestibilidade da materia orgánica da colección de mostras de pastos frescos

Parámetro	n	Media	SD	CV	Max	Min
Toda a colección						
MO	1255	89,7	2,9	3,3	96,5	75,0
PB	1255	15,0	5,7	38,1	33,1	3,2
FAD	1255	30,1	6,2	20,4	48,1	13,0
FND	1255	46,8	11,4	24,3	72,0	10,8
CNET	585	19,5	11,0	56,4	50,1	2,9
CSA	1255	14,8	8,9	60,0	48,5	0,9
DMO	593	73,6	6,7	9,1	87,3	49,1
Gramíneas						
MO	374	90,5	2,8	3,1	96,5	76,3
PB	374	12,6	6,5	51,5	33,1	3,2
FAD	374	29,4	5,1	17,3	40,2	16,9
FND	374	51,9	8,5	16,4	70,5	10,8
CNET	324	21,8	12,6	57,7	50,1	2,9
CSA	374	19,7	12,0	61,1	48,5	2,8
DMO	235	72,3	5,3	7,3	85,5	55,1
Leguminosas						
MO	425	88,9	3,0	3,4	96,0	75,0
PB	425	17,6	4,7	26,5	29,1	7,6
FAD	425	28,7	7,0	24,3	48,1	13,0
FND	425	37,4	9,5	25,5	67,0	14,5
CNET	133	17,1	7,0	40,7	36,5	4,0
CSA	425	12,5	4,8	38,7	33,9	0,9
DMO	212	75,4	6,9	9,2	87,3	49,1
Mesturas de gramíneas e leguminosas						
MO	456	89,8	2,7	3,0	96,5	79,9
PB	456	14,2	4,7	33,2	31,2	5,1
FAD	456	32,5	5,3	16,4	45,2	16,3
FND	456	52,8	8,1	15,2	72,0	29,6
CNET	128	16,0	8,3	51,9	35,1	4,1
CSA	456	12,7	6,8	53,6	36,6	1,3
DMO	146	68,8	5,2	7,6	77,9	52,9

MS: materia seca; MO: materia orgánica (%MS); PB: proteína bruta (%MS); FND: fibra neutro deterxente (%MS); FAD: fibra ácido deterxente (%MS); CNET: carbohidratos non estruturais (%MS); CSA: carbohidratos solúbeis en auga; DMO: dixestibilidade da MO (%); n: número de mostras; SD: desviación estándar; CV: coeficiente de variación; Max: valor máximo; Min: valor mínimo

Na Táboa 31 se mostra a composición química e dixestibilidade da materia orgánica da colección de mostras de pastos frescos, por especie e grupos de especies. Na interpretación dos resultados debe ser tido en conta, sen embargo, que os valores de cada grupo recollen distintos estados fenolóxicos e condicións ambientais, ademais dos xenotípicos, que poden ser diferentes para cada grupo, polo que a comparación entre especies debe ser efectuada con precaución.

O grupo das gramíneas está formado por dactilo (n=95), festuca (n=17), raigrás híbrido (n=25), raigrás inglés (n=64) e raigrás italiano (n=164). Para o grupo de leguminosas, as especies incluídas foron: alfalfa (n=10), serradela (n=63), trevo branco (n=22), trevo encarnado (n=31), trevo migueliano (n=49), trevo persa (n=107), trevo violeta (n=16), trevo vesiculoso (n=75) e mestura de trevos anuais (n=15). As mesturas de gramíneas e leguminosas incluían as seguintes composicións: gramíneas e leguminosas plurianuais (n=96), raigrás hibrido e trevos anuais (n=11), raigrás inglés e trevos branco e violeta (n=296) e raigrás italiano e trevos anuais (n=53).

Entre as gramíneas, o raigrás italiano mostrou o contido medio máis baixo en PB (8,8±4,4 %MS) e en FND (49,1±7,5 %MS) e os máis elevados en CSA (27,2±11,2 %MS) e en DMO (72,5±5,2 %), mentres que o dactilo e a festuca se comportaron á inversa, mostrando respectivamente os valores máis altos en PB (17,4±5,9 e 17,3±6,4 %MS) e en FND (57,0±6,8 e 54,5±7,8 %MS) e menores en CSA (9,5±4,9 e 9,7±3,9 %MS) e en DMO (65,4±4,7 e 64,5±4,9%). Os valores respectivos das mostras de raigrás inglés e de raigrás híbrido foron intermedios entre os citados para o raigrás italiano, por unha banda e para dactilo e festuca, por outra.

Entre as leguminosas, salienta o elevado contido proteico da serradela (PB 20,4±2,6 %MS) e a alta dixestibilidade dos trevo persa (78,5±3,8 %), migueliano (76,9±7,0 %), vesiculoso (76,3±6,3 %) e encarnado (76,1±7,1 %). Nas mesturas de gramíneas e leguminosas, se salienta o maior contido proteico e dixestibilidade, xunto co menor contido en lignocelulosa, das mesturas de raigrás híbrido e trevos anuais, comparadas coas mesturas de raigrás inglés con trevos branco e violeta e as mesturas de varias gramíneas e trevos plurianuais, con valores respectivos (en %MS) de 16,3±2,8; 14,7±4,6 e 14,6±5,2 para PB e de 31,4±4,4; 32,0±5,3 e 34,4±6,7 para FAD, sendo para DMO de 70,1±6,0; 68,5±6,2 e 64,8±7,0%, respectivamente.

Táboa 31.- Composición química e dixestibilidade da materia orgánica da colección de mostras de pastos frescos, por especie e grupos de especies

a) Gramíneas

Dactilo (*Dactylis glomerata* L.)

Parámetro	n	Media	SD	CV	Max	Min
MO	95	90,3	2,1	2,3	93,5	80,9
PB	95	17,4	5,9	34,1	28,4	7,7
FAD	95	28,9	4,6	16,0	38,7	20,5
FND	95	57,0	6,8	12,0	69,1	30,3
CNET	83	9,6	4,7	49,5	21,4	2,9
CSA	95	9,5	4,9	51,8	20,6	2,8
DMO	41	65,4	4,7	7,2	79,7	53,0

Festuca (*Festuca arundinacea* Schreber.)

Parámetro	n	Media	SD	CV	Max	Min
MO	17	89,0	2,9	3,2	92,7	82,9
PB	17	17,3	6,4	36,8	33,1	10,1
FAD	17	29,7	4,2	14,2	37,0	23,8
FND	17	54,5	7,8	14,3	63,7	33,8
CNET	12	12,5	3,6	28,8	17,2	5,1
CSA	17	9,7	3,9	40,7	15,5	3,5
DMO	17	64,5	4,9	7,6	75,4	57,1

Raigrás hibrido (*Lolium x hybridum* Hausskn.)

Parámetro	n	Media	SD	CV	Max	Min
MO	25	89,6	3,6	4,0	93,5	76,3
PB	25	12,8	6,4	50,3	30,3	4,5
FAD	25	27,7	6,1	22,2	37,9	17,5
FND	25	48,1	9,1	19,0	64,9	33,8
CNET	21	28,8	9,2	31,9	48,0	11,8
CSA	25	23,7	10,4	43,7	45,1	3,6
DMO	25	72,2	4,8	6,6	80,4	66,2

Raigrás inglés (*Lolium perenne* L,)

Parámetro	n	Media	SD	CV	Max	Min
MO	64	90,6	2,9	3,2	96,5	84,0
PB	64	14,0	5,2	37,2	26,0	4,8
FAD	64	28,9	4,7	16,2	40,2	19,1
FND	64	53,5	9,3	17,4	70,5	10,8
CNET	38	16,9	6,6	39,0	31,5	6,2
CSA	64	15,8	6,7	42,3	33,5	5,9
DMO	64	69,0	5,6	8,1	81,1	56,0

Raigrás italiano (*Lolium multiflorum* L.)

Parámetro	n	Media	SD	CV	Max	Min
MO	164	90,9	2,6	2,9	95,0	77,3
PB	164	8,8	4,4	50,2	26,1	3,2
FAD	164	30,4	5,2	17,2	39,3	16,9
FND	164	49,1	7,5	15,3	68,1	31,6
CNET	153	29,1	11,0	37,8	50,1	5,0
CSA	164	27,2	11,3	41,7	48,5	4,4
DMO	88	72,5	5,2	7,1	85,5	55,1

b) Leguminosas

Alfalfa (*Medicago sativa* L.)

Parámetro	n	Media	SD	CV	Max	Min
MO	10	85,3	6,5	7,6	92,4	75,0
PB	10	14,6	2,1	14,7	18,2	10,3
FAD	10	35,3	8,8	25,0	48,1	25,8
FND	10	48,6	6,8	14,0	59,2	39,3
CNET	10	11,1	4,7	41,9	17,1	6,3
CSA	10	10,9	4,6	42,7	16,5	5,2
DMO	10	66,8	12,5	18,7	78,8	49,1

Serradela (*Ornithopus sativus* Brot.)

Parámetro	n	Media	SD	CV	Max	Min
MO	63	88,6	1,5	1,7	91,6	84,2
PB	63	20,4	2,6	12,9	24,6	12,1
FAD	63	27,5	6,7	24,3	40,4	15,8
FND	63	35,4	7,8	22,1	50,8	22,5
CNET	2	14,5	8,4	57,7	20,5	8,6
CSA	63	8,6	3,2	37,2	20,3	3,8
DMO	25	70,8	6,6	9,4	83,2	55,8

Trevo branco (*Trifolium repens* L.)

Parámetro	n	Media	SD	CV	Max	Min
MO	22	87,2	4,0	4,6	92,1	78,5
PB	22	16,8	4,7	27,7	24,3	8,0
FAD	22	30,3	4,4	14,6	39,5	19,3
FND	22	41,8	6,5	15,5	54,6	30,6
CNET	5	19,5	12,1	61,9	35,7	8,5
CSA	22	10,5	7,0	66,7	33,4	4,4
DMO	22	70,3	5,4	7,7	78,1	61,5

Trevo encarnado (*Trifolium incarnatum* L.)

Parámetro	n	Media	SD	CV	Max	Min
MO	31	88,8	2,0	2,2	91,5	84,6
PB	31	18,3	5,1	27,9	25,4	9,9
FAD	31	26,1	8,5	32,6	39,0	13,0
FND	31	35,0	8,8	25,1	49,6	23,2
CNET	4	23,8	13,8	58,1	36,5	11,7
CSA	31	13,3	5,8	43,4	33,9	7,0
DMO	26	76,1	7,1	9,3	86,1	62,3

Trevo migueliano (*Trifolium michelianum* Savi.)

Parámetro	n	Media	SD	CV	Max	Min
MO	49	87,0	2,4	2,8	91,1	79,3
PB	49	18,1	4,7	25,8	26,7	11,6
FAD	49	29,3	8,5	29,2	44,3	16,6
FND	49	33,5	8,6	25,6	49,4	22,0
CNET	9	17,0	5,5	32,2	23,1	7,1
CSA	49	11,1	3,5	31,4	19,4	5,1
DMO	25	76,9	7,0	9,1	87,3	62,5

Trevo persa (*Trifolium resupinatum* L. *ssp. resupinatum*. *ssp. majus*)

Parámetro	n	Media	SD	CV	Max	Min
MO	107	88,3	1,7	2,0	92,3	82,6
PB	107	18,6	4,1	22,1	29,1	11,6
FAD	107	27,2	5,6	20,6	42,3	14,5
FND	107	31,7	5,6	17,6	48,7	22,1
CNET	5	25,0	3,0	11,9	28,0	21,6
CSA	107	14,8	3,3	22,2	28,5	6,0
DMO	22	78,5	3,8	4,9	86,0	64,1

Trevo violeta (*Trifolium pratense* L.)

Parámetro	n	Media	SD	CV	Max	Min
MO	16	89,5	2,0	2,2	93,3	86,3
PB	16	17,8	5,8	32,6	27,2	8,6
FAD	16	31,3	7,2	22,9	42,7	16,9
FND	16	44,4	8,2	18,4	57,7	29,5
CNET	4	9,9	4,4	44,5	15,2	4,5
CSA	16	6,9	3,7	53,1	14,6	0,9
DMO	16	66,2	7,6	11,4	81,5	54,8

Trevo vesiculoso (*Trifolium vesiculosum* Savi.)

Parámetro	n	Media	SD	CV	Max	Min
MO	75	88,5	1,8	2,1	93,3	83,9
PB	75	18,8	4,5	23,8	28,0	8,8
FAD	75	30,1	7,7	25,5	44,4	13,3
FND	75	36,0	8,5	23,7	51,6	14,5
CNET	5	22,5	3,3	14,4	26,4	18,0
CSA	75	12,6	3,2	25,6	23,3	7,6
DMO	22	76,3	6,3	8,3	87,2	72

Mestura de trevos anuais

Parámetro	n	Media	SD	CV	Max	Min
MO	15	85,8	2,2	2,6	89,5	82,8
PB	15	17,5	2,7	15,5	22,0	14,4
FAD	15	35,0	8,3	23,7	45,1	21,7
FND	15	41,1	7,7	18,8	50,7	29,5
CNET	11	7,3	3,2	44,6	15,1	4,0
CSA	15	7,7	3,8	49,3	14,8	3,3
DMO	15	70,7	4,8	6,8	78,5	64,1

c) Mesturas de gramíneas e leguminosas

Gramíneas e leguminosas plurianuais

Parámetro	n	Media	SD	CV	Max	Min
MO	96	91,9	2,7	2,9	95,3	81,2
PB	96	14,6	5,2	35,5	31,2	6,5
FAD	96	34,4	6,7	19,4	45,2	18,4
FND	96	52,0	9,2	17,8	69,6	33,6
CNET	96	11,6	6,0	51,9	33,8	4,8
CSA	96	9,9	5,3	53,4	30,8	1,5
DMO	46	64,8	7,0	10,8	77,6	52,9

Raigrás híbrido e trevos anuais

Parámetro	n	Media	SD	CV	Max	Min
MO	11	86,6	1,6	1,9	88,8	82,9
PB	11	16,3	2,8	17,4	24,1	13,6
FAD	11	31,4	4,4	14,1	39,1	25,7
FND	11	51,7	4,0	7,8	57,1	44,7
CNET	11	14,9	4,7	31,5	20,9	4,9
CSA	11	12,0	4,0	33,5	18,5	4,1
DMO	11	70,1	6,0	8,6	77,9	61,5

Raigrás inglés con trevos branco e violeta

Parámetro	n	Media	SD	CV	Max	Min
MO	296	89,7	2,7	3,0	96,5	80,3
PB	296	14,7	4,6	31,3	29,9	5,1
FAD	296	32,0	5,3	16,6	44,7	16,3
FND	296	52,8	8,4	15,9	72,0	29,6
CNET	37	16,3	9,2	56,3	35,1	4,1
CSA	296	11,8	6,2	52,5	36,6	1,3
DMO	36	68,5	6,2	9,1	81,4	53,0

Raigrás italiano con trevos anuais

Parámetro	n	Media	SD	CV	Max	Min
MO	53	89,5	2,1	2,3	93,6	79,9
PB	53	10,1	2,5	25,1	18,1	6,2
FAD	53	33,9	3,4	10,0	40,0	23,3
FND	53	53,9	5,0	9,2	66,3	45,0
CNET	34	21,9	7,3	33,5	33,3	7,2
CSA	53	20,6	6,5	31,8	34,5	7,1
DMO	53	70,6	2,7	3,8	77,7	63,6

MS: materia seca; MO: materia orgánica (%MS); PB: proteína bruta (%MS); FND: fibra neutro deterxente (%MS); FAD: fibra ácido deterxente (%MS); CNET: carbohidratos non estruturais (%MS); CSA: carbohidratos solúbeis en auga (%MS); DMO: dixestibilidade da MO (%); n: número de mostras; SD: desviación estándar; CV: coeficiente de variación; Max: valor máximo; Min: valor mínimo

Correlacións entre composición química e dixestibilidade

Na Táboa 32 se mostra a matriz de correlacións entre os parámetros de composición química e dixestibilidade da materia orgánica do total da colección de mostras de pastos frescos e na Táboa 33 se indica o valor do coeficiente de correlación entre DMO e os constituíntes químicos para as mostras das familias gramíneas, leguminosas e as súas mesturas. Se observa unha elevada correlación negativa (p<0,001) entre a dixestibilidade e o contido en fibra tanto para o total de mostras da colección como para os distintos grupos da mesma. Os valores do coeficiente de correlación r entre os contidos de FAD e FND e o de DMO foron, para o conxunto da colección, moi semellantes (-0,79 e -0,78, respectivamente), sendo máis altos para a familia das leguminosas (-0,80 e -0,88) comparado coas gramíneas (-0,73 e -0,77) e coas mesturas (-0,61 e -0,52). O contido proteico mostrou unha significativa (p<0,001) correlación

positiva coa DMO pero de menor valor absoluto comparado coa da fracción fibrosa, tanto para a totalidade da colección (r=0,49), como para as leguminosas (r=0,63), sendo moi baixa para as gramíneas (r=0,18; p<0,05) e non significativa (r=0,09; p>0,05) para as mesturas. O contido en CSA mostrou unha moderada asociación positiva coa DMO para as especies gramíneas (r=0,40; p<0,001), as especies leguminosas (r=0,58; p<0,001) e as súas mesturas (r=0,46; p<0,001), sendo moito máis baixa dita asociación cando se considera o conxunto das mostras (r=0,18; p<0,001).

Táboa 32.- Matriz de correlacións entre parámetros de composición química e dixestibilidade da materia orgánica da colección de mostras de pastos

		PB	FAD	FND	HCEL	CSA	DMO
Xeral, tódalas mostras							
MO	*r*	-0,45	0,17	0,41	0,46	0,35	-0,29
	p	***	***	***	***	***	***
PB	*r*	-	-0,56	-0,76	-0,63	-0,64	0,49
	p		***	***	***	***	***
FAD	*r*	-	-	0,76	0,22	-0,12	-0,79
	p			***	***	**	***
FND	*r*	-	-	-	0,81	0,19	-0,78
	p				***	***	***
HCEL	*r*	-	-	-	-	0,40	-0,45
	p					***	***
CSA	*r*	-	-	-	-	-	0,13
	p						**

MS: materia seca; MO: materia orgánica (%MS); PB: proteína bruta (%MS); FND: fibra neutro deterxente (%MS); FAD: fibra ácido deterxente (%MS); CNET: carbohidratos non estruturais (%MS); CSA: carbohidratos solúbeis en auga (%MS); DMO: dixestibilidade da MO (%); *r:* coeficiente de correlación de Pearson; *p*: significación (*** p<0,001; ** p<0,01; * p<0,05; NS p>0,05*:* non significativo)

Táboa 33.- Coeficiente de correlación entre os constituíntes químicos e o valor de DMO para as coleccións de mostras de pastos de gramíneas, de leguminosas e de mesturas

		DMO Gramíneas	DMO Leguminosas	DMO Mesturas
MO	*r*	-0,14	-0,24	-0,32
	p	NS	***	**
PB	*r*	0,18	0,63	0,09
	p	*	***	NS
FAD	*r*	-0,73	-0,80	-0,61
	p	***	***	***
FND	*r*	-0,77	-0,88	-0,52
	p	***	***	***
HCEL	*r*	-0,57	-0,35	-0,10
	p	***	***	NS
CSA	*r*	0,40	0,58	0,46
	p	***	***	***

MS: materia seca; MO: materia orgánica (%MS); PB: proteína bruta (%MS); FND: fibra neutro deterxente (%MS); FAD: fibra ácido deterxente (%MS); CNET: carbohidratos non estruturais (%MS); CSA: carbohidratos solúbeis en auga; DMO: dixestibilidade da MO (%); *r:* coeficiente de correlación de Pearson; *p*: significación (*** p<0,001; ** p<0,01; * p<0,05; NS p>0,05*:* non significativo)

Ecuacións de predición de DMO baseadas en parámetros químicos

Como resultado do proceso de construción dos modelos baseados en parámetros químicos para a predición da DMO e da súa validación, nas Táboas 34a e 34b se mostran as ecuacións empíricas que foron seleccionadas para o total de mostras de pastos frescos e para os grupos de especies de gramíneas, de leguminosas e para as súas mesturas, xunto cos correspondentes estatísticos de validación cruzada e de validación externa. As ecuacións de regresión están ordenadas, dentro de cada grupo, de maior a menor varianza explicada polo modelo no proceso de calibración.

Para o conxunto total das mostras de pastos frescos, o mellor modelo obtido neste traballo, baseado en FAD, PB e HCEL, conseguiu explicar un 71% da varianza da DMO, cun erro de predición $SECV$ de ±3,56% no proceso de validación cruzada. A eliminación de HCEL da ecuación reduciu a porcentaxe de varianza explicada en 10 unidades porcentuais, e o valor de $SECV$ aumentou até ±4,1%. A subseguinte eliminación de PB mostrou unha mínima redución do coeficiente de determinación sen modificar o erro de predición, indicando unha mínima contribución da inclusión do valor de proteína no modelo para a estimación de DMO de pastos frescos cando este xa contén FAD como preditor. Este último modelo mostrou que a redución do valor de DMO por cada incremento dunha unidade do valor de FAD foi de 0,74 unidades porcentuais. Os valores do coeficiente de determinación (r^2) e do erro de predición (SEP) dos tres modelos no proceso de validación externa, sobre mostras non utilizadas para a construción das ecuacións foron, respectivamente, de 0,69 e ±3,65%, de 0,60 e ±4,15% e de 0,58 e ±4,17% para os modelos de tres, dúas e unha variábel, respectivamente. Os valores dos estatísticos RPD_{ve} e RER_{ve} no conxunto de validación externa para estes tres modelos foron, respectivamente, de 1,80, 1,59 e 1,57 para RPD_{ve} e de 9,1, 8,0 e 8,0 para RER_{ve}.

Para o grupo de gramíneas os modelos de predición seleccionados para a predición de DMO foron, por orde decrecente en canto á porcentaxe de varianza explicada en validación cruzada, unha ecuación baseada en FND e MO, outra baseada en FND e unha terceira baseada en FAD, con valores respectivos en validación cruzada de 0,59, 0,59 e 0,52 para o coeficiente de determinación e de ±3,34, ±3,37 e ±3,60% para o erro de predición. En validación externa, os correspondentes valores foron 0,54, 0,52 e 0,49 para r^2 e de ±3,59, ±3,68 e ±3,78% para SEP. A xulgar polos valores dos estatísticos

RPD_{ve} e RER_{ve} en validación externa que oscilaron, respectivamente, entre 1,47 e 1,39 e entre 8,4 e 8,0, a fiabilidade da predición da DMO para o grupo de gramíneas non mellorou a obtida para as calibracións do grupo xeral.

As ecuacións obtidas para o grupo de mostras de leguminosas mostraron valores máis elevados do coeficiente de determinación e menores para o erro de predición en validación cruzada, comparados cos observados para as ecuacións de predición de DMO nos dous grupos anteriores. A porcentaxe de varianza explicada foi do 81% e o valor de $SECV$ foi de ± 2,99% para unha ecuación multivariábel que incluía as concentracións de FND, PB e CSA como preditores. As ecuacións univariábeis con FND e FAD explicaron o 76 e o 64% da varianza con erros de predición ±3,35 e ±4,14%, respectivamente, mostrando un mellor comportamento a ecuación baseada no contido en FND, en comparación coa que inclúe FAD como preditor de DMO. Os valores de RPD_{ve} e RER_{ve} en validación externa para os tres modelos oscilaron, respectivamente, entre 2,0 e 1,6 e entre 11,1 e 8,9, confirmando o mellor comportamento das ecuacións empíricas para as especies leguminosas, en comparación coas ecuacións globais de pastos frescos.

Na construción de modelos específicos de estimación da dixestibilidade para o grupo de mesturas de gramíneas e leguminosas se observou que estes non melloraban a calidade da predición cando se comparaban cos modelos construídos con toda a colección de pastos frescos. A ecuación con FAD e CSA como preditores mostrou, en validación cruzada, un coeficiente de determinación de 0,51 e un erro de predición $SECV$ de ±3,69%, sendo os correspondentes valores de r^2 e de SEP de 0,43 e ±3,93% en validación externa. A eliminación de CSA da ecuación reduciu o valor do coeficiente de determinación en 0,14 e 0,17 unidades e incrementou o valor dos erros de predición até ±4,15 e ±4,46 % en validación cruzada e externa, respectivamente. O valor de RPD_{ve} obtido no proceso de validación externa oscilou entre 1,32 e 1,16 para as dúas ecuacións, mentres que o de RER_{ve} oscilou entre 6,8 e 6,0, o que ilustra acerca da baixa calidade dos modelos de predición para este grupo.

Como resumo deste apartado se indica que as ecuacións empíricas para a predición da DMO de mostras de pastos en estado fresco presentan, aplicadas a un conxunto de mostras externas, unha fiabilidade reducida, con valores de varianza explicada no entorno do 60% e erros de predición de entre ±3,6 e ±4,1 unidades. A capacidade

preditiva das ecuacións xerais non é mellorada pola de ecuacións específicas para os grupos de especies gramíneas e das mesturas de gramíneas e leguminosas, pero si polas ecuacións desenvolvidas especificamente para as especies leguminosas. A utilización destas últimas ecuacións con propósitos de servizo ás explotacións está condicionada pola correcta identificación das mostras, en ocasións deficiente, sendo máis evidente o seu uso con propósitos de apoio á investigación e á mellora de plantas leguminosas pratenses e trevos anuais, de ser o caso.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Táboa 34a.- Ecuacións de predición da dixestibilidade da materia orgánica de pastos frescos en base a parámetros químicos

Ecuación						Calibración		Validación cruzada		Validación externa				
						R^2	SEC	1-VR	SECV	r^2	SEP	SEPc	Bias	Pend
Xeral, tódalas mostras														
DMO =		106,3	-0,82 FAD	-0,25 PB	-0,37 HCEL	0,72	3,55	0,71	3,56	0,69	3,66	3,65	-0,002	0,968
	s.e	*±1,34*	*±0,020*	*±0,036*	*±0,025*									
	P	***	***	***	***	***		***		***				
DMO =		94,83	-0,74 FAD	-0,07 PB		0,62	4,13	0,61	4,14	0,60	4,15	4,15	-0,24	1,035
	s.e	*±1,27*	*±0,030*	*±0,036*										
	P	***	***	*		***		***		***				
DMO =		96,99	-0,78 FAD			0,61	4,14	0,60	4,16	0,58	4,18	4,17	-0,27	1,043
	s.e	*±0,77*	*±0,020*											
	P	***	***			***		***		***				
Gramíneas														
DMO =		79,72	-0,55 FND	-0,21 MO		0,60	3,32	0,59	3,34	0,54	3,60	3,59	0,28	1,022
	s.e	*±8,71*	*±0,035*	*±0,102*										
	P	***	***	***		***		***		***				
DMO =		98,04	-0,53 FND			0,59	3,36	0,59	3,37	0,52	3,70	3,68	0,36	0,996
	s.e	*±1,69*	*±0,034*											
	P	***	***			***		***		***				
DMO =		94,20	-0,72 FAD			0,53	3,61	0,52	3,60	0,49	3,81	3,78	-0,44	0,943
	s.e	*±1,64*	*±0,053*											
	P	***	***			***		***		***				

DMO: dixestibilidade da materia orgánica (%); MS: materia seca; FND: fibra neutro deterxente (%MS); FAD: fibra ácido deterxente (%MS); HCEL: hemicelulosa (%MS); PB: proteína bruta (%MS); MO: materia orgánica (%MS); *s.e:* erro estándar; *P:* significación (*** $P<0,001$; ** $P<0,01$; * $P<0,05$; NS non significativo $P>0,05$); R^2: coeficiente de determinación do modelo de calibración; SEC: erro estándar de calibración; 1-VR: coeficiente de determinación en validación cruzada; SECV: erro estándar de validación cruzada; r^2: coeficiente de determinación en validación externa; SEP: erro estándar de predición; SEPc: erro estándar de predición corrixido por bias; Bias: diferencia media entre os valores observados e os preditos pola ecuación; Pend: pendente da regresión entre valores observados e preditos pola ecuación

Táboa 34b.- Ecuacións de predición da dixestibilidade da materia orgánica de pastos frescos en base a parámetros químicos (Continuación)

Ecuación						Calibración		Validación cruzada		Validación externa				
						R^2	SEC	1-VR	SECV	r^2	SEP	SEPc	Bias	Pend
Leguminosas														
DMO =	75,67	-0,51 FND	+0,28 PB	+ 1,66 CSA	-0,047 CSA^2	0,81	2,95	0,81	2,99	0,75	3,43	3,38	0,592	0,919
s.e	*±3,68*	*±0,042*	*±0,070*	*±0,231*	*±0,081*									
P	***	***	***	***	***	***		***		***				
DMO =	101,21	-0,74 FND				0,76	3,33	0,76	3,35	0,71	3,68	3,64	0,502	0,934
s.e	*±0,78*	*±0,020*												
P	***	***				***		***		***				
DMO =	96,79	-0,74 FAD				0,64	4,13	0,64	4,14	0,61	4,28	4,27	0,22	0,873
s.e	*±0,88*	*±0,022*												
P	***	***				***		***		***				
Mesturas														
DMO =	88,12	-0,70 FAD	+ 0,25 CSA			0,51	3,67	0,49	3,69	0,43	3,93	3,91	0,29	1,210
s.e	*±3,62*	*±0,105*	*±0,052*											
P	***	***	***			***		***		***				
DMO=	94,92	-0,77 FAD				0,37	4,14	0,36	4,15	0,26	4,46	4,43	0,52	1,121
s.e	*±3,77*	*±0,11*												
P	***	***				***		***		***				

DMO: dixestibilidade da materia orgánica (%); MS: materia seca; FND: fibra neutro deterxente (%MS); FAD: fibra ácido deterxente (%MS); PB: proteína bruta (%MS); CSA: carbohidratos solúbeis en auga (%MS); *s.e:* erro estándar; *P:* significación (*** P<0,001; ** P<0,01 * P<0,05;NS non significativo P>0,05); R^2: coeficiente de determinación do modelo de calibración; SEC: erro estándar de calibración; 1-VR: coeficiente de determinación en validación cruzada; SECV: erro estándar de validación cruzada; r^2: coeficiente de determinación en validación externa; SEP: erro estándar de predición; SEPc: erro estándar de predición corrixido por bias; Bias: diferencia media entre os valores observados e os preditos pola ecuación; Pend: pendente da regresión entre valores observados e preditos pola ecuación

4.1.2.2 Ecuacións NIRS para a predición da composición química e DMO

Na Táboa 35 se mostran os valores medios e a variabilidade dos constituíntes químicos e da dixestibilidade da materia orgánica dos grupos de calibración (n= 770) e de validación externa (n= 258) seleccionados da colección de pastos en estado fresco, que foron utilizados para o desenvolvemento dos modelos de predición NIRS. Na mesma Táboa se indican os estatísticos de calibración e de validación externa das ecuacións NIRS seleccionadas para a predición dos parámetros de composición química e da DMO deste grupo de forraxes.

Os valores medios (e rango de variación) dos parámetros de composición química e da dixestibilidade nos grupos de calibración e de validación externa mostran a similitude na composición de ambas coleccións de mostras. Os valores medios e rangos de variación (expresados en %MS) foron, para MO 88,9 (75,0 a 95,0) e 89,8 (79,3 a 95,3), para PB 15,0 (3,2 a 31,2) e 15,0 (4,5 a 30,3), para FND 41,4 (14,5 a 69,6) e 45,7 (20,3 a 71,3), para FAD 29,9 (13,0 a 48,1) e 30,1 (14,6 a 44,3), para CNET 24,2 (4,0 a 48,6) e 16,5 (2,2 a 50,0) e para CSA 17,3 (3,3 a 47,8) e 16,0 (3,2 a 48,5), respectivamente, nos grupos de calibración e validación externa. O valor medio (e rango de variación) da DMO foi de 73,6% (rango 49,1 a 87,3%) para o grupo de calibración e de 73,7% (rango 53,9 a 87,3%) para o de validación externa. O amplo intervalo de variación e a elevada desviación estándar para tódolos parámetros estudados confirma a elevada heteroxeneidade das mostras en ambos grupos, que pretende reproducir a existente no ámbito de aplicación das ecuacións.

Do total de mostras da colección inicial, o número de mostras eliminadas como anómalas, oscilou entre 2,3 e 4,9% para as ecuacións de estimación de constituíntes químicos, sendo do 2,6% na construción do modelo preditivo para DMO. As estimacións máis precisas e exactas para a concentración de PB, FND, FAD, CSA e para o valor de DMO se obtiveron coas ecuacións desenvolvidas a partir da segunda derivada do espectro, mentres que para os contidos en MO e CNET a estimación se optimizaba co uso da primeira derivada. Os modelos de predición obtivéronse co procedemento SNV+D como pretratamento espectral para todos os parámetros, excepto para a MO, que o foi co procedemento de corrección multiplicativa da dispersión (W-MSC).

Os coeficientes de determinación no proceso de validación cruzada ($1-VR$) foron superiores a 0,90 para todos os parámetros, a excepción do contido en MO ($1-VR$= 0,88). Utilizando o valor deste parámetro como indicador da calidade das calibracións (Shenk *et al*., 2001), esta pode ser considerada excelente para a estimación das distintas variábeis, coa excepción da ecuación para a predición de MO que sería categorizada como boa. As ecuacións NIRS cos maiores valores de $1-VR$ foron as que predicían os contidos en PB, FND, CNET e CSA, con valores entre 0,97 e 0,98, seguidas da ecuación de predición da FAD (0,94) e da DMO (0,91). Os erros en validación cruzada foron de ±0,95% para MO, ±0,86% para PB, ±1,91% para FND, ±1,49% para FAD, ±1,37% para CNET e ±1,36% para CSA, sendo de ±2,05% para DMO. Como mostra da robustez dun modelo de predición, Burns e Ciurczak (1992) suxiren que a relación entre o $SECV$ e o SEC dunha ecuación debería estar comprendida entre 0,5 e 1,5 como indicación da calidade dos datos de referencia e da correlación entre estes e os datos espectrais. Para a colección de mostras de pastos frescos, a relación $SECV/SEC$ de tódalas ecuacións de predición NIRS oscilou entre 1,04 e 1,09, dentro do intervalo recomendado, indicando a robustez dos modelos de predición NIRS obtidos para a estimación da composición química e a DMO destes forraxes.

A representación gráfica dos valores preditos polas diferentes ecuacións NIRS e os valores de referencia do conxunto de validación externa se mostra nas Figuras 3 e 4 para a estimación, respectivamente, da composición química e da DMO. Os valores de r^2 e do erro de predición SEP foron, respectivamente, de 0,82 e ±1,19 %MS para MO, de 0,98 e ±0,89 %MS para PB, de 0,97 e ±1,94% pra FND, de 0,95 e ±1,58% para FAD, de 0,98 e ±1,55% para CNET, de 0,97 e ±1,52% para CSA e de 0,88 e ±2,38% para DMO. Os valores do coeficiente de determinación superan o umbral de 0,90, indicativo dunha calidade excelente da ecuación (Shenk *et al*., 2001), excepto para a DMO, cun valor moi próximo (r^2=0,88) e para o contido en MO, cun valor algo máis baixo (r^2=0,82) pero indicativo dunha calidade aceptábel. O bo comportamento das ecuacións NIRS para a predición da composición química e a dixestibilidade dos pastos frescos se ve confirmado ao revisar os criterios de Windham *et al*. (1989) e de Shenk e Westerhaus (1991b) para avaliar a calidade das ecuacións aplicadas a un conxunto de mostras independentes, toda vez que os modelos obtidos mostraron valores de r^2>0,60, pendente entre 0,9 e 1,1e tanto o $bias$ como o SEP_c se situaron dentro dos límites de confianza en relación ao SEC ($bias$ = ±0,6 SEC e SEP_c ≤1,3 SEC), se ben unicamente para a

ecuación de predición do contido en MO este último criterio se ve lixeiramente superado. O SEP é considerado como un dos mellores estatísticos para avaliar a capacidade preditiva dun modelo de predición NIRS (Fearn, 2002), ao tratarse dunha medida directa do comportamento da calibración con futuras mostras. Un criterio adicional establecido para cualificar a utilidade dunha ecuación NIR para o uso en rutina é que o SEP debe ser inferior a dúas veces o erro estándar do laboratorio (Windham *et al*., 1989). Todos os modelos de predición NIRS obtidos cumpren este criterio, excepto no caso do contido en MO, que supera lixeiramente o límite recomendado (SEL=0,58; SEP=1,19).

Atendendo ao valor do estatístico RPD_{ve} en validación externa, as ecuacións para a predición da composición química das forraxes frescas superaron amplamente o valor establecido por Williams (2014) para considerar un modelo con boa capacidade de predición cuantitativa (RPD >3), acadando valores de 6,3, 5,9, 4,0, 7,0 e 6,4 para PB, FND, FAD, CNET e CSA, mentres que para a ecuación de estimación de MO este valor foi de 2,3 o que indica unha predición cuantitativa de mediocre calidade. Para a estimación de DMO, o valor de RPD_{ve} en validación externa (2,8) estivo moi próximo ao valor umbral, polo que se considera que a ecuación presenta unha calidade aceptábel, se atendemos ao criterio de Williams (2014) ou boa, se seguimos o criterio de Saeys *et al.* (2005) que indica un rango de valores de RPD entre 2,5 e 3,0 para permitir unha predición cuantitativa fiábel. No caso de ecuacións NIRS para a predición de parámetros biolóxicos, como é o caso da dixestibilidade, Williams e Sobering (1996) propoñen utilizar o estatístico RER como criterio de valoración das ecuacións NIRS en adición ao SEP. Os valores deste parámetro para a ecuación NIRS de predición da DMO mostra para o conxunto de validación independente un valor de 14,0, claramente superior ao límite mínimo de 10 establecido por dichos autores, o que confirma a exactitude e a precisión do modelo de predición NIRS para a estimación de dixestibilidade de mostras de pastos frescos e asegurando a validez dos mesmos desde o punto de vista da súa aplicación en análise de rutina.

Táboa 35.- Estatísticos de calibración e validación cruzada das ecuacións NIRS para estimación da composición química e da dixestibilidade da materia orgánica de mostras de pastos frescos

Parámetro	Scatter	Tratamento matemático	Calibración										Validación cruzada			
			n	Outliers	T	Media	SD	Min	Max	Rango	R^2	SEC	1-VR	SECV	RPDvc	RERvc
MO	W-MSC	1,10,5,1	770	20	13	88,9	2,8	75,0	95,0	20,0	0,89	0,91	0,88	0,95	3,0	21,1
PB	SNV+D	2,4,4,1	770	18	13	15,0	6,3	3,2	31,2	28,0	0,98	0,79	0,98	0,86	7,3	32,6
FND	SNV+D	2,6,4,1	770	19	14	41,4	11,2	14,5	69,6	55,0	0,98	1,79	0,97	1,91	5,9	28,9
FAD	SNV+D	2,10,5,1	770	22	11	29,9	6,6	13,0	48,1	35,1	0,95	1,43	0,94	1,49	4,4	23,6
CNET	SNV+D	1,10,5,1	280	18	10	24,2	11,6	4,0	48,6	44,6	0,98	1,26	0,98	1,37	8,5	32,6
CSA	SNV+D	2,10,5,1	400	20	13	17,3	9,8	3,3	47,8	44,5	0,98	1,28	0,97	1,36	7,2	32,6
DMO	SNV+D	2,10,5,1	445	12	9	73,6	6,7	49,1	87,3	38,3	0,92	1,98	0,91	2,05	3,3	18,6

Parámetro	Validación externa														
	n	Media	SD	Min	Max	Rango	r^2	SEP	SEPc	Bias	Pend.	RPDve	RERve	GH	NH
MO	258	89,8	2,7	79,3	95,3	16,0	0,82	1,19	1,19	-0,07	1,01	2,3	13,4	1,11	0,38
PB	258	15,0	5,6	4,5	30,3	25,8	0,98	0,89	0,89	-0,01	1,01	6,3	29,1	1,11	0,38
FND	258	45,7	11,5	20,3	71,3	51,0	0,97	1,94	1,95	0,10	1,01	5,9	26,2	1,11	0,38
FAD	258	30,1	6,4	14,6	44,3	29,7	0,95	1,58	1,58	0,11	0,99	4,0	18,8	1,11	0,38
CNET	172	16,5	10,9	2,2	50,0	47,8	0,98	1,55	1,55	0,34	0,98	7,0	30,9	1,13	0,38
CSA	199	16,0	9,8	3,2	48,5	45,2	0,97	1,52	1,49	0,07	1,00	6,4	29,7	1,09	0,36
DMO	148	73,7	6,6	53,9	87,3	33,4	0,88	2,38	2,39	-0,04	0,97	2,8	14,0	1,03	0,35

W-MSC: multiplicative scatter correction; SNV+D: standard normal variate+detrend; n: número de observacións; Outliers: número de mostras anómalas eliminadas; T: número de factores da regresión; SD: desviación estándar; Min: valor mínimo; Max: valor máximo; SEC: erro estándar de calibración; R^2: coeficiente de determinación do modelo de calibración; SEC: erro estándar de calibración; 1-VR: coeficiente de determinación en validación cruzada; SECV: erro estándar de validación cruzada; RPDvc: ratio entre a desviación estándar e o erro de predición en validación cruzada; RERvc: ratio entre rango de valores e o erro de predición en validación cruzada; r^2v: coeficiente de determinación en validación externa; SEP:erro estándar de predición; SEPc: erro estándar de predición corrixido por bias; Bias: diferencia media entre os valores observados e os preditos pola ecuación; Pend: pendente da regresión; RPDve: ratio entre a desviación estándar e o erro de predición en validación externa; RERve: ratio entre rango de valores e o erro de predición en validación externa; GH e NH: distancias de Mahalanobis; MS: materia seca; MO: materia orgánica (%MS); PB: proteína bruta (%MS); FND: fibra neutro deterxente (%MS); FAD: fibra ácido deterxente (%MS); CNET: carbohidratos non estruturais (%MS); CSA: carbohidratos solúbeis en auga (%MS); DMO: dixestibilidade da materia orgánica (%)

Figura 3.- Plot de valores de composición química medidos polos métodos de referencia e de valores preditos polas ecuacións NIRS en validación externa para mostras de pastos frescos

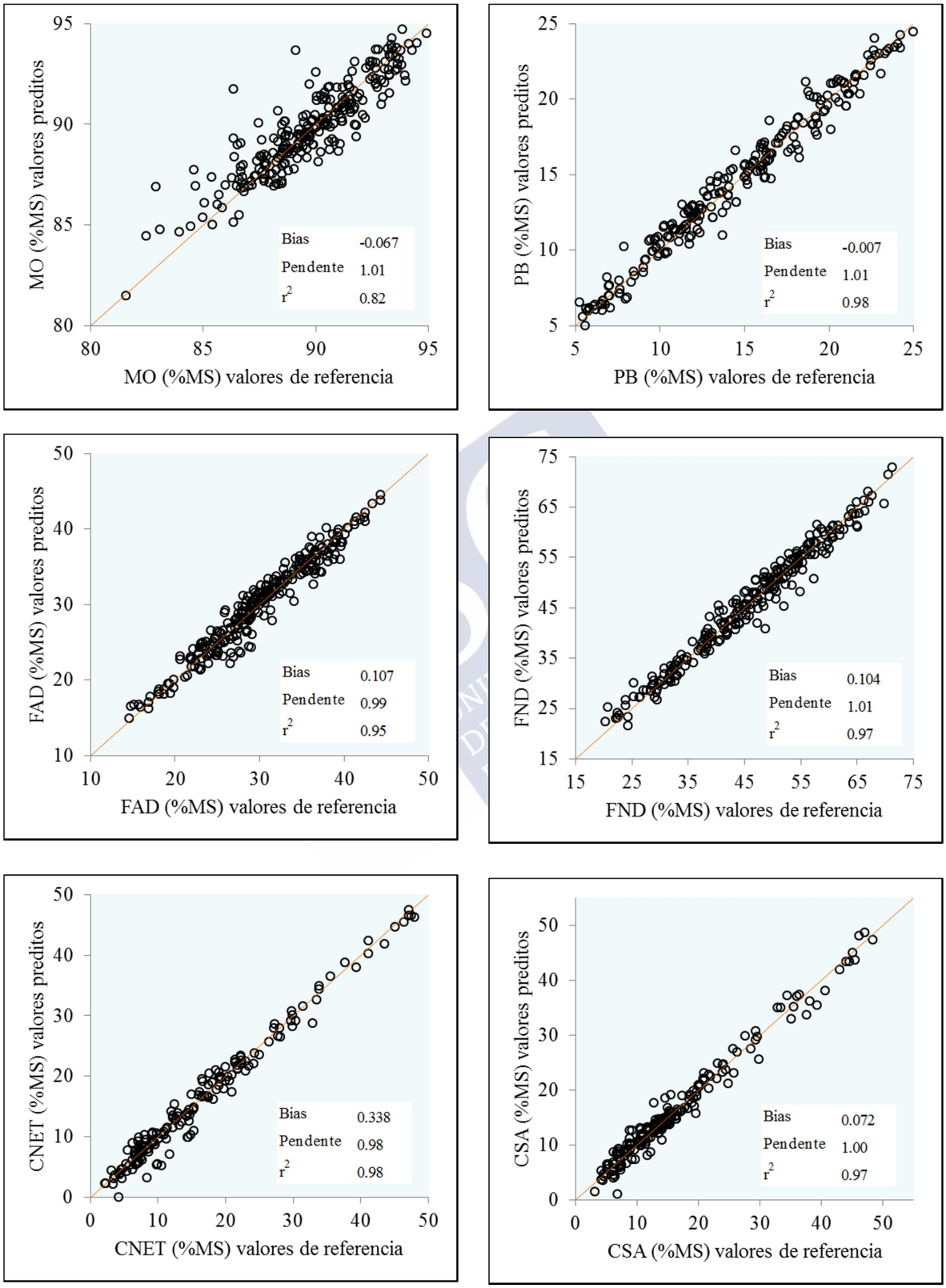
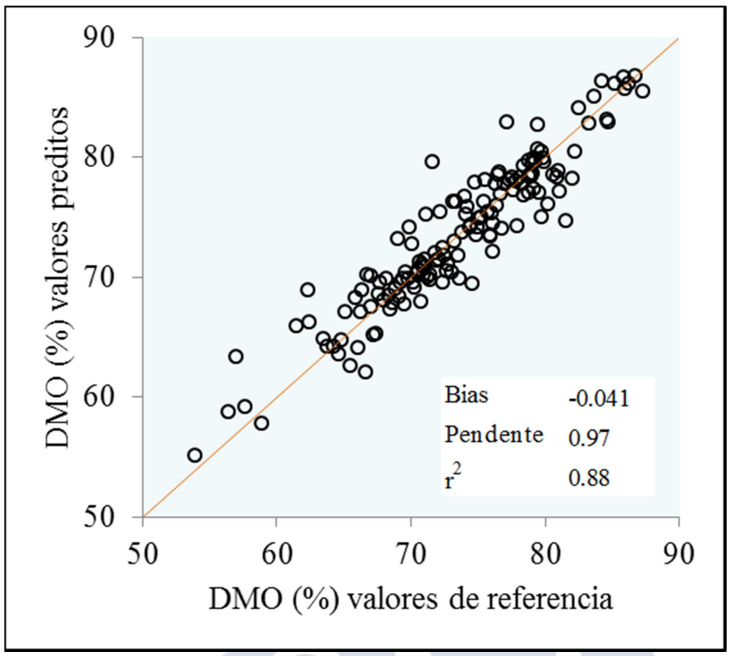


Figura 4.- Plot de valores de dixestibilidade da materia orgánica medidos polo método de referencia e de valores preditos polas ecuacións NIRS en validación externa para mostras de pastos frescos



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

4.1.3 Cultivos de inverno: Chícharo, triticale e as súas mesturas en estado fresco

4.1.3.1 Ecuacións empíricas para a predición de DMO

Valores medios da colección

Na Táboa 36 se expoñen as características da composición nutricional e dixestibilidade da materia orgánica das 431 mostras da colección de chícharo, triticale e as súas mesturas utilizadas na construción das ecuacións empíricas. Os valores medios (e rango de variación) da composición química, expresados en %MS foron: MO 91,3 (81,4 a 96,5), PB 15,3 (5,1 a 29,1), FND 42,8 (23,5 a 66,5), FAD 31,2 (20,8 a 46,6), HCEL 11,6 (2,0 a 30,5), ALM 5,2 (0,0 a 30,0), CNET 20,2 (2,8 a 38,1) e CSA 15,0 (1,9 a 36,3). Dentro dos parámetros de composición química, o contido en materia orgánica foi o menos variábel, mostrando un coeficiente de variación de 3,2%, mentres que a maior variabilidade se encontrou para o contido en amidón (CV=116,5%), seguido dos carbohidratos solúbeis en auga (CV=39,9%), carbohidratos non estruturais (CV=38,2%), proteína bruta (CV=32,0%) e fibra neutro deterxente (CV=21,8%), reflectindo as diferenzas existentes para estes parámetros entre as dúas especies (gramíneas e leguminosas) que constitúen este grupo de cultivos.

Táboa 36.- Composición química e dixestibilidade da colección de mostras de chícharo, de triticale e das súas mesturas, en estado fresco

Parámetro	n	Media	SD	CV	Max	Min
MO	431	91,3	2,9	3,2	96,5	81,4
PB	431	15,3	4,9	32,0	29,1	5,1
FND	431	42,8	9,3	21,8	66,5	23,5
FAD	431	31,2	5,1	16,4	46,6	20,8
HCEL	431	11,6	6,2	53,5	30,5	2,0
ALM	431	5,2	6,0	116,5	30,0	0,0
CNET	431	20,2	7,7	38,2	38,1	2,8
CSA	431	15,0	6,0	39,9	36,3	1,9
DMO	431	70,3	6,2	8,8	84,2	48,2

MS: materia seca; MO: materia orgánica (%MS); PB: proteína bruta (%MS); FND: fibra neutro deterxente (%MS); FAD: fibra ácido deterxente (%MS); HCEL: hemicelulosa (%MS); CNET: carbohidratos non estruturais: CSA: carbohidratos solúbeis; DMO: dixestibilidade da MO (%); n: número de mostras; SD: desviación estándar; CV: coeficiente de variación; Max: valor máximo; Min: valor mínimo

O valor medio de DMO foi de 70,3%, cun amplo rango de variación entre 48,2 e 84,2%, a pesar do cal o seu coeficiente de variación (8,8%) se considera moderado, como é

típico para os valores deste parámetro nas coleccións de mostras de forraxes, onde habitualmente está por debaixo do 10%.

A fin de ofrecer unha mellor descrición do colectivo de mostras deste grupo de forraxes, na Táboa 37 se mostran por separado os valores correspondentes ás características nutricionais das mostras de chícharo, de triticale e das mesturas de ambas especies.

Táboa 37.- Composición química e dixestibilidade da colección de mostras de chícharo, triticale e as súas mesturas, en estado fresco

Parámetro	n	Media	SD	CV	Max	Min
Chícharo						
MO	303	90,7	2,9	3,2	95,6	81,4
PB	303	17,3	3,8	21,9	29,1	8,4
FND	303	38,0	5,1	13,4	53,9	23,5
FAD	303	29,6	4,1	13,9	42,5	20,8
HCEL	303	8,4	2,8	33,5	18,6	2,0
ALM	303	6,0	6,6	111,2	30,0	0,0
CNET	303	20,5	7,8	38,0	38,1	5,2
CSA	303	14,5	5,0	34,5	26,6	3,4
DMO	303	71,7	4,5	6,3	81,4	55,3
Triticale						
MO	68	92,8	3,0	3,2	96,5	84,5
PB	68	9,2	3,4	37,1	20,3	5,1
FND	68	56,6	5,6	9,9	66,5	42,7
FAD	68	33,4	4,8	14,3	40,9	22,5
HCEL	68	23,2	2,0	8,6	30,5	19,9
ALM	68	2,4	3,5	143,9	17,7	0,0
CNET	68	22,9	6,7	29,4	36,6	9,6
CSA	68	20,5	6,9	33,6	36,3	4,4
DMO	68	71,3	6,8	9,6	84,2	57,2
Mesturas de chícharo e triticale						
MO	60	92,2	2,5	2,7	95,8	82,9
PB	60	11,8	3,3	27,9	20,1	6,1
FND	60	52,0	6,7	12,9	65,6	34,8
FAD	60	37,1	4,8	12,9	46,6	22,2
HCEL	60	14,9	4,4	29,6	29,0	6,1
ALM	60	4,2	3,4	81,0	13,7	0,0
CNET	60	15,6	6,4	40,8	30,9	2,8
CSA	60	11,4	5,5	48,3	27,2	1,9
DMO	60	62,0	6,4	10,3	76,1	48,2

MS: materia seca; MO: materia orgánica (%MS); PB: proteína bruta (%MS); FND: fibra neutro deterxente (%MS); FAD: fibra ácido deterxente (%MS); HCEL: hemicelulosa (%MS); CNET: carbohidratos non estruturais: CSA: carbohidratos solúbeis; DMO: dixestibilidade da MO (%); n: número de mostras; SD: desviación estándar; CV: coeficiente de variación; Max: valor máximo; Min: valor mínimo

Os valores medios de composición química do chícharo e do triticale reflicten as clásicas diferenzas entre as especies gramíneas e leguminosas. Como era de esperar, a poboación da especie leguminosa, en comparación co cereal, mostrou un maior contido medio en PB (17,3 vs. 9,2 %MS) e menores contidos en FND (38,0 vs. 56,6 %MS), HCEL (8,4 vs. 23,2 %MS) e CSA (14,5 vs. 20,5 %MS). O valor medio de DMO, sen embargo, foi moi parecido para ambas especies (71,7% para o chícharo e 71,3% para o triticale). Para a colección das mesturas de chícharo e triticale os correspondentes valores medios foron intermedios entre os indicados para ambas especies, menos para o contido en CSA e para DMO, que tiveron valores máis baixos, reflectindo probabelmente o efecto do estado de madurez e o manexo da colleita tras o corte, ademais da proporción relativa entre especies en cada mostra deste grupo.

Correlacións entre composición química e dixestibilidade

Na Táboa 38 se indican os coeficientes de correlación dos parámetros de composición química e dixestibilidade da materia orgánica para o conxunto de mostras. A correlación máis elevada entre o valor de DMO e os parámetros químicos foi para o contido en FAD (r=-0,83; p<0,001) e FND (r=-0,83; p<0,001) ambas de signo negativo, mentres que as correlacións coa concentración de PB (r=0,40; p<0,001) e coa de CNET e CSA (r=0,36 e 0,39; p<0,001) tiveron un valor máis baixo e signo positivo.

Na Táboa 39 se mostran as matrices de correlación entre os parámetros de composición nutricional e a dixestibilidade da materia orgánica das mostras de chícharo, de triticale e as súas mesturas. Da mesma forma que o observado para o conxunto das mostras, os constituíntes que mostraron unha correlación máis alta co valor de DMO, en valor absoluto, foron os contidos en FAD e FND, sendo en tódolos casos altamente significativa (p<0,001). A maior correlación foi para o contido en FAD, con valores do coeficiente de correlación r de -0,86 para as mostras da leguminosa, de -0,80 para as do cereal e de -0,65 para as mesturas, seguido do contido en FND, con valores de r de, repectivamente, -0,82, -0,68 e -0,42. Nos grupos das mostras de chícharo e as súas mesturas co cereal, a concentración de PB, CNET e CSA mostrou unha baixa pero significativa (p<0,001) correlación coa DMO, con valores de r de 0,32 e 0,35 para PB, de 0,33 e 0,43 para CNET e de 0,34 e 0,59 para CSA, respectivamente. No grupo de mostras do triticale o coeficiente de correlación da DMO con PB foi de 0,54 (p<0,001) mentres que para CNET e CSA non acadou significación (p>0,05), evidenciando as diferencias entre as especies gramíneas e leguminosas a este respecto.

Táboa 38.- Matriz de correlacións entre parámetros de composición química e dixestibilidade da materia orgánica da colección de mostras de chícharo, de triticale e das súas mesturas, en estado fresco

		PB	FND	FAD	HCEL	ALM	CNET	CSA	DMO
MO	*r*	-0,34	0,34	0,35	0,23	-0,11	0,06	0,19	-0,25
	p	***	***	***	***	*	NS	***	***
PB	*r*	-	-0,77	-0,50	-0,75	-0,23	-0,40	-0,28	0,40
	p		***	***	***	***	***	***	***
FND	*r*	-	-	0,78	0,86	-0,15	-0,13	-0,02	-0,57
	p			***	***	**	**	NS	***
FAD	*r*	-	-	-	0,35	-0,28	-0,40	-0,24	-0,83
	p				***	***	***	***	***
HCEL	*r*	-	-	-	-	0,01	0,14	0,17	-0,18
	p					NS	**	***	***
ALM	*r*	-	-	-	-	-	0,64	-0,18	0,08
	p						***	***	NS
CNET	*r*	-	-	-	-	-	-	0,64	0,36
	p							***	***
CSA	*r*	-	-	-	-	-	-	-	0,39
	p								***

MS: materia seca; MO: materia orgánica (%MS); PB: proteína bruta (%MS); FND: fibra neutro deterxente (%MS); FAD: fibra ácido deterxente (%MS); HCEL: hemicelulosa (%MS); ALM: amidón; CNET: carbohidratos non estruturais: CSA: carbohidratos solúbeis; DMO: dixestibilidade da materia orgánica (%); *r:* coeficiente de correlación de Pearson; *p*: significación (*** $p<0,001$; ** $p<0,01$; * $p<0,05$; NS $p>0,05$: non significativo)

Táboa 39.- Coeficiente de correlación entre os constituíntes químicos e o valor de DMO para as tres coleccións de mostras de cultivos de inverno, en estado fresco

		DMO Chícharo	DMO Triticale	DMO Mesturas
MO	*r*	-0,22	-0,46	0,14
	p	***	***	NS
PB	*r*	0,32	0,54	0,35
	p	***	***	**
FND	*r*	-0,82	-0,68	-0,42
	p	***	***	***
FAD	*r*	-0,86	-0,80	-0,65
	p	***	***	***
HCEL	*r*	-0,22	0,00	0,06
	p	***	NS	NS
ALM	*r*	0,13	-0,22	-0,15
	p	*	NS	NS
CNET	*r*	0,33	0,12	0,43
	p	***	NS	***
CSA	*r*	0,34	0,23	0,59
	p	***	NS	***

MS: materia seca; MO: materia orgánica (%MS); PB: proteína bruta (%MS); FND: fibra neutro deterxente (%MS); FAD: fibra ácido deterxente (%MS); HCEL: hemicelulosa (%MS); ALM: amidón; CNET: carbohidratos non estruturais: CSA: carbohidratos solúbeis; DMO: dixestibilidade da materia orgánica (%); *r:*coeficiente de correlación de Pearson; *p*: significación (*** $p<0,001$; ** $p<0,01$; * $p<0,05$; NS $p>0,05$: non significativo)

Ecuacións de predición de DMO baseadas en parámetros químicos

Os resultados do proceso de construción e validación das ecuacións de predición de DMO a partir dos constituíntes químicos da colección de mostras de chícharo, triticale e as súas mesturas en estado fresco se mostra nas Táboas 40a e 40b presentando os resultados para os modelos construídos sobre o total de mostras da colección e por separado para os grupos da leguminosa, do cereal e das súas mesturas. As ecuacións seleccionadas se ordenan dentro de cada grupo en orde decrecente de varianza explicada polo modelo no proceso de calibración (R^2), incluíndose a varianza explicada en validación cruzada ($1 - VR$) e en validación externa (r^2), os erros mínimos de predición en calibración, validación cruzada e externa (SEC, $SECV$ e SEP, respectivamente), así como o valor do $bias$ e a pendente da regresión entre os valores preditos e os valores de referencia na etapa de validación externa.

O mellor modelo para o conxunto da colección, que incluía como preditores os contidos de FAD e CSA, permitiu explicar en validación cruzada e externa, respectivamente, o 72 e o 59% da varianza, con erros de predición de ±3,25 e ±3,95%. A eliminación do valor de CSA da ecuación reduciu a porcentaxe de varianza explicada até o 68% e o 54% e aumentou o erro de predición até ±3,49% e ±4,18% en validación cruzada e externa, respectivamente. Os valores de RPD_{ve} e de RER_{ve} na validación independente oscilaron entre 1,56 e 1,47 e entre 9,11 e 8,55, respectivamente, indicando unha baixa calidade preditiva das ecuacións.

As ecuacións seleccionadas a partir do conxunto de mostras de chícharo foron máis precisas que as construídas sobre o total das mostras. O valor do coeficiente de determinación e o erro de predición en validación cruzada foi, respectivamente, de 0,79 e ±2,04% para o modelo coas variábeis FAD, CSA e PB, de 0,76 e ±2,17% para o modelo con FAD e CSA e 0,74 e ±2,28% para o modelo univariábel con FAD como preditor, mostrando unha aceptábel robustez para a predición da dixestibilidade de mostras independentes, con valores de r^2 de 0,76 e 0,73 e de SEP de ±2,13 e ± 2,43% para as dúas ecuacións ecuación multivariábeis e de r^2= 0,73 e SEP= ±2,48% para a ecuación baseada en FAD. En base aos valores RPD_{ve} e RER_{ve} en validación externa, que oscilaron, respectivamente entre 2,1 e 1,8 e entre 12,2 e 10,5, a calidade das ecuacións pode considerarse aceptábel para a predición cuantitativa aproximada para o modelo con tres variábeis e baixa para os outros dous.

Para o colectivo de mostras de triticale, cun tamaño considerabelmente menor que o anterior, a capacidade preditiva das ecuacións seleccionadas non mellorou a obtida cando se utilizaba o total das mostras. Os valores do coeficiente de determinación para a ecuación de dúas variábeis con FAD e ALM como preditores e para a ecuación univariábel con FAD como preditor en validación cruzada foron, respectivamente, de 0,70 e 0,63 e os do erro de predición $SECV$ de ±3,70 e ±4,14%. A precisión das estimacións empeorou claramente cando se aplicaban os modelos ao conxunto de validación independente, con valores de 0,54 e 0,43 para r^2 e de ±4,89 e ±5,01% para SEP. Os valores de RPD_{ve} (1,39 e 1,35) e RER_{ve} (5,52 e 5,38) en validación externa mostran unha baixa calidade das ecuacións.

Tamén cun número de mostras comparativamente moi reducido, as ecuacións construídas para a estimación de DMO das mesturas de chícharo e triticale se mostraron máis imprecisas que os modelos xerais, con valores en validación cruzada de $1 - VR$ entre 0,42 e 0,38 e de $SECV$ entre ±4,80 e ±5,01% para a ecuación de dúas variábeis con FAD e CSA como preditores, e para a ecuación baseada en FAD, respectivamente. Como no caso anterior, cando se aplicaron os modelos construídos no proceso de validación externa ao conxunto de mostras independentes, a calidade das predicións empeorou notablemente, como se deduce do baixo valor de r^2 (0,36 e 0,32) e do elevado valor de SEP (±5,40 e ±5,52%) para os dous modelos utilizados neste grupo. Como no caso anterior, a calidade das ecuacións para a predición de DMO de mostras problema é deficiente, tendo en conta os baixos valores obtidos para RPD_{ve} (1,18 e 1,15) e de RER_{ve} (5,1 e 5,0) na validación independente.

En resumo, as ecuacións empíricas para a predición da DMO de mostras de cultivos de inverno en estado fresco constituídos por chícharo, triticale e as súas mesturas presentan unha baixa fiabilidade cando se aplican a mostras non incluídas no modelo de calibración, con valores de varianza explicada por debaixo do 60% e erros de predición entre ±3,9 e ±4,2 unidades. A capacidade preditiva das ecuacións xerais é mellorada polas ecuacións específicas construídas para o conxunto de mostras de chícharo, que mostraron unha calidade entre aceptábel e baixa con valores de varianza explicada superiores ao 70% e erros de predición entre ±2,1 e ±2,4 unidades. Polo contrario, as ecuacións específicas para os grupos de triticale e de mesturas foi inferior á observada para as ecuacións desenvolvidas sobre o total de mostras, non sendo de utilidade con

propósitos preditivos, en parte debido ao reducido número de mostras nestes dous grupos.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Táboa 40a.- Ecuacións de predición da dixestibilidade da materia orgánica en base a parámetros químicos da colección de mostras de chícharo, de triticale e das súas mesturas, en estado fresco

Ecuación					Calibración		Validación cruzada		Validación externa				
					R^2	SEC	1-VR	SECV	r^2	SEP	SEPc	Bias	Pend
Tódalas mostras (n=431)													
DMO =	96,51	-0,94 FAD	+0,21 CSA		0,72	3,25	0,72	3,26	0,59	3,95	3,94	0,267	0,884
s.e.	*±1,16*	*±0,031*	*±0,026*										
P	***	***	***		***		***		***				
DMO =	101,56	-1,00 FAD			0,68	3,42	0,68	3,49	0,54	4,21	4,18	0,494	0,844
s.e.	*±1,04*	*±0,032*											
P	***	***			***		***		***				
Chícharo (n=303)													
DMO =	90,59	-0,85 FAD	+0,18 CSA	+0,21 PB	0,80	2,02	0,79	2,04	0,76	2,13	2,13	-0,076	0,899
s.e.	*±1,34*	*±0,030*	*±0,024*	*±0,032*									
P	***	***	***	***	***		***		***				
DMO =	95,50	-0,91 FAD	+0,14 CSA		0,77	2,15	0,76	2,17	0,73	2,43	2,41	0,369	0,966
s.e.	*±1,06*	*±0,032*	*±0,025*										
P	***	***	***		***		***		***				
DMO =	99,76	-0,95 FAD			0,74	2,26	0,74	2,28	0,73	2,48	2,43	0,485	0,975
s.e.	*±0,94*	*±0,031*											
P	***	***			***		***		***				

DMO: dixestibilidade da materia orgánica (%); MS: materia seca; FAD: fibra ácido deterxente (%MS); CSA: carbohidratos solúbeis en auga (%MS); PB: proteína bruta (%MS); *P:* significación (*** P<0,001; ** P<0,01; * P<0,05; NS non significativo P>0,05); R^2: coeficiente de determinación do modelo de calibración; SEC: erro estándar de calibración; 1-VR: coeficiente de determinación en validación cruzada; SECV: erro estándar de validación cruzada; r^2: coeficiente de determinación en validación externa; SEP: erro estándar de predición; SEPc: erro estándar de predición corrixido por bias; Bias: diferencia media entre os valores observados e os preditos pola ecuación; Pend: pendente da regresión entre valores observados e preditos pola ecuación

Táboa 40b.- Ecuacións de predición da dixestibilidade da materia orgánica en base a parámetros químicos da colección de mostras de chícharo, de triticale e das súas mesturas, en estado fresco (Continuación)

Ecuación				Calibración		Validación cruzada		Validación externa				
				R^2	SEC	1-VR	SECV	r^2	SEP	SEPc	Bias	Pend
Triticale (n=68)												
DMO=	111,77	-1,17 FAD	-0,56 ALM	0,71	3,67	0,70	3,70	0,54	4,89	4,84	0,642	1,066
s,e	*±3,21*	*±0,094*	*±0,130*									
P	***	***	***	***		***		***				
DMO =	109,35	-1,13 FAD		0,63	4,13	0,63	4,14	0,43	5,01	4,92	-0,906	1,064
s,e	*±3,56*	*±0,105*										
P	***	***		***		***		***				
Mesturas de Chícharo e Triticale (n=60)												
DMO=	80,67	-0,61 FAD	+0,35 CSA	0,47	4,67	0,42	4,84	0,36	5,40	5,11	1,675	0,951
s,e	*±7,19*	*±0,163*	*±0,148*									
P	***	***	*	***		***		*				
DMO =	94,11	-0,86 FAD		0,42	4,88	0,38	5,01	0,32	5,52	5,31	1,447	1,072
s,e	*±4,97*	*±0,133*										
P	***	***		***		***		*				

DMO: dixestibilidade da materia orgánica (%); MS: materia seca; FAD: fibra ácido deterxente (%MS); CSA: carbohidratos solúbeis en auga (%MS); ALM: amidón (%MS); *P:* significación (*** *P<0,001*; ** *P<0,01; * P<0,05; NS* non significativo *P>0,05*); R^2, coeficiente de determinación do modelo de calibración; SEC: erro estándar de calibración; 1-VR: coeficiente de determinación en validación cruzada; SECV: erro estándar de validación cruzada; r^2: coeficiente de determinación en validación externa; SEP: erro estándar de predición; SEPc: erro estándar de predición corrixido por bias; Bias: diferencia media entre os valores observados e os preditos pola ecuación; Pend: pendente da regresión entre valores observados e preditos pola ecuación

4.1.3.2 Ecuacións NIRS para a predición da composición química e DMO

Na Táboa 41 se poden observar os valores medios e a variabilidade dos parámetros de composición química e da dixestibilidade da materia orgánica dos grupos de calibración (n= 345) e validación externa (n= 107) da colección de mostras dos cultivos de chícharo, triticale e as súas mesturas en estado fresco que foron utilizadas para o desenvolvemento dos modelos de predición, así como os correspondentes estatísticos de calibración e validación externa das ecuacións.

Os valores medios (e rango de variación) dos parámetros de composición química dos colectivos de calibración e de validación externa, expresados en %MS foron, respectivamente, para MO 91,1 (81,5 a 96,5) e 91,6 (84,5 a 96,4), para PB 15,2 (5,1 a 29,1) e 15,4 (5,6 a 28,4), para FND 42,8 (23,5 a 66,5) e 42,9 (28,0 a 64,9), para FAD 31,1 (20,8 a 46,6) e 31,4 (22,5 a 40,3), para CNET 20,1 (2,8 a 38,1) e 20,6 (4,6 a 36,6) e para CSA 14,7 (1,9 a 36,2) e 16,0 (4,5 a 36,3). No grupo de calibración, o valor medio de DMO foi de 70,1%, oscilando entre 42,8 e 81,8% e no grupo de validación externa o valor medio foi de 70,7%, cun rango de variación entre 56,1 a 84,2. Os valores mostran unha elevada heteroxeneidade das mostras que constitúen este tipo de forraxe para tódolos parámetros considerados.

O número de mostras anómalas eliminadas do conxunto de calibración respecto do número inicial de mostras oscilou entre 1,8 e 5,1% para as calibracións NIRS para estimar os parámetros químicos, sendo do 4,1% na construción dos modelos correspondentes á estimación de DMO, todos eles claramente por debaixo do valor máximo do 20% recomendado por Shenk e Westerhaus (1995a) no desenvolvemento de ecuacións de calibración NIRS.

Os pretratamentos espectrais dos modelos de predición que deron mellores resultados foron SNV+D (PB, FAD, FND e DMO), D (CSA), SNV (CNET) e W-MSC (MO). As ecuacións obtidas a partir da segunda derivada permitiron obter estimacións máis exactas para os parámetros de FND, FAD, CNET, CSA e DMO, mentres que para o resto de constituíntes a estimación se optimizaba cando se usaba a primeira derivada do espectro.

Os coeficientes de determinación no proceso de validación cruzada ($1-VR$) foron iguais ou superiores a 0,95 para todos los parámetros, a excepción do contido en MO ($1-VR$=0,87), Segundo Shenk *et al.* (2001) a calidade das ecuacións obtidas para

todas as variábeis pode considerarse excelente, a excepción da MO que sería cualificada como de boa calidade. As ecuacións con maior valor do coeficiente de determinación en validación cruzada foron as utilizadas na predición de CSA e FND (0,97) seguidas das correspondentes á predición de PB, FAD e CNET (0,96) e de DMO (0,95). O ratio entre $SECV$ e SEC oscilou entre 1,08 e 1,18, dentro do intervalo sinalado por Burns e Ciurczak (1992) como indicativo de calibracións NIRS robustas.

A validación externa dos modelos de calibracións NIRS levouse a cabo utilizando unha poboación de 107 mostras, mostrándose graficamente nas Figuras 5 e 6 a distribución dos valores de referencia e dos valores preditos polas ecuacións NIRS. Os valores de r^2 e SEP foron, respectivamente, de 0,82 e ±1,22% para MO, de 0,96 e ±1,0% para PB, de 0,97 e ±1,50% para FND, de 0,96 e ±0,97% para FAD, de 0,94 e ±1,82% para CNET, de 0,96 e ±1,21% para CSA e de 0,91 e ±1,69% para DMO. En tódolos casos os valores do coeficiente de determinación r^2 superan o umbral de 0,90 indicativo dunha excelente calidade do axuste das ecuacións (Shenk *et al*., 2001), excepto para o contido en MO (r^2=0,82) onde o axuste pode ser considerado como de boa calidade. Os valores de SEP obtidos nas ecuacións NIRS foron inferiores a 2 veces o erro estándar do método de referencia (SEL) para tódolos parámetros coa excepción da ecuación para a predición de MO, no que se supera lixeiramente dito límite (SEL= ±0,60% e SEP= ±1,22%). Shenk e Westerhaus (1996) indican que cando a relación entre os valores de SEP e SEL está próximo a 2,0 o axuste da ecuación NIRS se considera aceptábel.

Os distintos modelos construídos para tódolos parámetros cumpriron os criterios de control de calidade suxeridos por Windham *et al*. (1989) para testar a fiabilidade das ecuacións NIRS nas estimacións realizadas sobre mostras independentes, relativos aos seguintes valores límite: r^2>0,60, pendente entre 0,9 e 1,1 e $bias$= ±0,6 SEC. O criterio adicional de que o valor de SEP_c debería ser ≤1,3 SEC, se cumpre para as ecuacións de predición de PB, FAD, FND e DMO, mentres que para MO, CNET, e CSA este valor límite é lixeiramente superado.

O valor do estatístico RPD_{ve} foi de 4,9 para PB, 6,0 para FND, 4,7 para FAD, 4,1 para CNET, 5,2 para CSA e 3,4 para DMO, todos eles superiores ao valor límite (RPD>3) establecido por Williams (2014) para considerar un modelo con boa capacidade de predición cuantitativa. Unicamente a ecuación de predición de MO obtivo un valor inferior (RPD_{ve}=2,4), indicativo dunha capacidade preditiva cuantitativa de mediocre calidade para este parámetro. Os valores do estatístico RER_{ve} en validación superaron en

tódolos casos o umbral mínimo recomendado (RER=10) por Williams e Sobering (1996) e por Williams (2014), a excepción da MO que presenta un valor lixeiramente inferior (RER_{ve}=9,8). Os resultados obtidos mostran a utilidade da técnica NIRS para a estimación da DMO de mostras de chícharo, de triticale e as súas mesturas en estado fresco. Estes resultados confirman a exactitude e a precisión das ecuacións obtidas e aseguran a validez das mesmas desde o punto de vista da súa aplicación a mostras futuras en análise de rutina.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Táboa 41.- Estatísticos de calibración e validación cruzada das ecuacións NIRS para estimación da composición química e da dixestibilidade da materia orgánica de mostras de chícharo, de triticale e das súas mesturas en estado fresco

Parámetro	Scatter	Tratamento matemático	Calibración										Validación cruzada			
			n	Outliers	T	Media	SD	Min	Max	Rango	R^2	SEC	1-VR	SECV	RPDvc	RERvc
MO	W-MSC	1,4,4,1	345	16	14	91,1	3,0	81,4	96,5	15,1	0,91	0,88	0,87	1,05	2,8	14,4
PB	SNV+D	1,4,4,1	345	13	8	15,2	4,9	5,1	29,1	24,1	0,97	0,85	0,96	0,98	5,0	24,5
FND	SNV+D	2,4,4,1	345	6	10	42,8	9,5	23,5	66,5	43,0	0,97	1,52	0,97	1,64	5,8	26,2
FAD	SNV+D	2,4,4,1	345	9	8	31,1	5,3	20,8	46,6	25,8	0,97	0,94	0,96	1,03	5,1	25,2
CNET	SNV	2,10,5,1	345	9	12	20,1	7,8	2,8	38,1	35,3	0,97	1,38	0,96	1,52	5,1	23,2
CSA	D	2,10,10,1	345	16	12	14,7	5,9	1,9	36,2	34,3	0,98	0,88	0,97	0,96	6,1	35,6
DMO	SNV+D	2,10,5,1	324	13	9	70,1	6,3	48,2	81,8	33,6	0,96	1,30	0,95	1,41	4,5	23,9

Parámetro	Validación externa														
	n	Media	SD	Min	Max	Rango	r^2	SEP	SEPc	Bias	Pend.	RPDve	RERve	GH	NH
MO	107	91,6	2,9	84,5	96,4	11,9	0,82	1,22	1,22	-0,08	0,95	2,4	9,8	0,93	0,31
PB	107	15,4	4,9	5,6	28,4	22,8	0,96	1,00	1,01	0,08	1,00	4,9	22,8	0,93	0,31
FND	107	42,9	8,9	28,0	64,9	36,9	0,97	1,50	1,50	0,08	1,00	6,0	24,7	0,93	0,31
FAD	107	31,4	4,5	22,5	40,3	17,8	0,96	0,97	0,96	0,19	0,99	4,7	18,3	0,93	0,31
CNET	107	20,6	7,4	4,6	36,6	32,1	0,94	1,82	1,82	-0,10	0,97	4,1	17,6	0,93	0,31
CSA	107	16,0	6,3	4,5	36,3	31,8	0,96	1,21	1,21	0,11	0,99	5,2	26,4	0,93	0,31
DMO	107	70,7	5,7	56,1	84,2	28,1	0,91	1,69	1,70	0,03	0,99	3,4	16,6	0,93	0,31

W-MSC: multiplicative scatter correction; SNV+D: standard normal variate+detrend; SNV: standard normal variate; D: detrend; n: número de observacións; Outliers: número de mostras anómalas eliminadas; T: número de factores da regresión; SD: desviación estándar; Min: valor mínimo; Max: valor máximo; SEC: erro estándar de calibración; R^2. coeficiente de determinación do modelo de calibración; SEC: erro estándar de calibración; 1-VR: coeficiente de determinación en validación cruzada; SECV: erro estándar de validación cruzada; RPDvc: ratio entre a desviación estándar e o erro de predición en validación cruzada; RERvc: ratio entre rango de valores e o erro de predición en validación cruzada; r^2: coeficiente de determinación en validación externa; SEP: erro estándar de predición; SEPc: erro estándar de predición corrixido por bias; Bias: diferencia media entre os valores observados e os preditos pola ecuación; Pend: pendente da regresión; RPDve: ratio entre a desviación estándar e o erro de predición en validación externa; RERve: ratio entre rango de valores e o erro de predición en validación externa; GH e NH: distancias de Mahalanobis; MS: materia seca; MO: materia orgánica (%MS); PB: proteína bruta (%MS); FND: fibra neutro deterxente (%MS); FAD: fibra ácido deterxente (%MS); CNET: carbohidratos non estruturais (%MS); CSA: carbohidratos solúbeis en auga (%MS); DMO: dixestibilidade da materia orgánica (%)

Figura 5.- Plot de valores de composición química medidos polos métodos de referencia e de valores preditos polas ecuacións NIRS para mostras de chícharo, de triticale e das súas mesturas en estado fresco

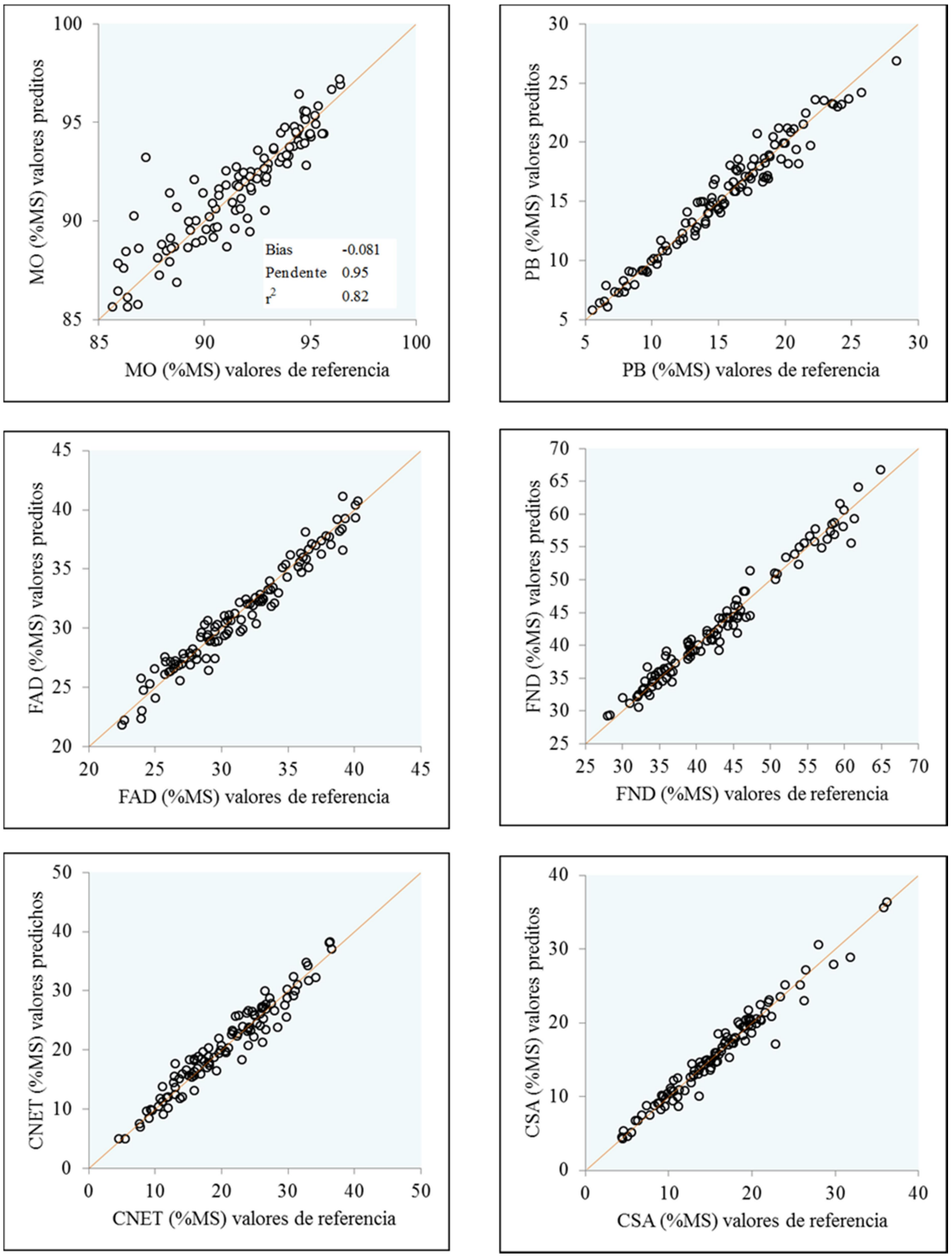
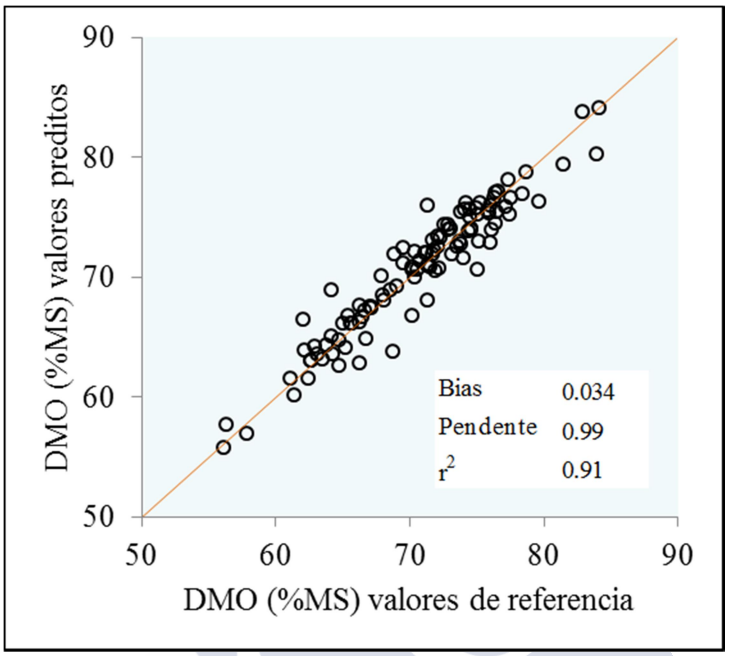


Figura 6.- Plot de valores de dixestibilidade da materia orgánica medidos polo método de referencia e de valores preditos polas ecuacións NIRS para mostras de chícharo, de triticale e das súas mesturas en estado fresco



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

4.1.4 Planta enteira de millo en estado fresco

4.1.4.1 Ecuacións empíricas para a predición de DMO

Valores medios da colección

Na Táboa 42 se mostran as características da colección composta polas 129 mostras de planta enteira de millo en estado fresco das que se dispuña de información sobre a composición química e a dixestibilidade da materia orgánica e que foron utilizadas para a construción de ecuacións empíricas. Os contidos medios (e rango de variación) deste conxunto de mostras (en %MS), foron os seguintes: MO 96,1 (93,5 a 98,3), PB 6,4 (4,5 a 8,6), FAD 25,9 (17,4 a 33,9), FND 49,6 (38,1 a 58,5), HCEL 23,8 (18,8 a 29,6) e ALM 23,6 (3,3 a 44,0). O valor medio de DMO foi 67,1% e o seu rango 55,8 a 77,0%, mostrando unha variabilidade relativamente ampla para este tipo de forraxe. O parámetro con maior coeficiente de variación (CV=36,1%) foi o contido en amidón e o menos variábel foi o contido en MO (CV=1,01%), mentres que a DMO foi intermedia, cun coeficiente de variación de 6,9%.

Táboa 42.- Composición química e dixestibilidade da materia orgánica da colección de mostras de planta enteira de millo en estado fresco utilizadas para a construción das ecuacións empíricas

Parámetro	n	Media	SD	CV	Max	Min
MO	129	96,1	0,97	1,01	98,3	93,5
PB	129	6,4	1,02	16,0	8,6	4,5
FAD	129	25,9	3,93	15,2	33,9	17,4
FND	129	49,6	5,17	10,4	58,5	38,1
HCEL	129	23,8	2,16	9,1	29,6	18,8
ALM	129	23,6	8,51	36,1	44,0	3,3
DMO	129	67,1	4,66	6,9	77,0	55,8

MS: materia seca; MO: materia orgánica (%MS); PB: proteína bruta (%MS); FND: fibra neutro deterxente (%MS); FAD: fibra ácido deterxente (%MS); HCEL: hemicelulosa (%MS); ALM: amidón (%MS); DMO: dixestibilidade da MO (%); n: número de mostras; SD: desviación estándar; CV: coeficiente de variación; Max: valor máximo; Min: valor mínimo

Correlacións entre composición química e dixestibilidade

Como se pode observarse na Táboa 43, salvo para o contido en amidón, que mostrou unha significativa correlación negativa coa dixestibilidade (r= -0,40; p<0,001) o coeficiente de correlación para o resto dos parámetros non acadou significación (p>0,05). Saliéntase a correlación negativa entre o contido en amidón e a concentración de FAD e de FND, con valores en ambos casos de r=-0,67 (p<0,001), mostrando o efecto da madurez da planta sobre estes parámetros.

Táboa 43.- Matriz de correlacións entre parámetros de composición química e dixestibilidade da materia orgánica da colección de mostras de planta enteira de millo en estado fresco

		PB	FAD	FND	HCEL	ALM	DMO
MO	r	-0,14	-0,54	-0,37	0,09	0,47	0,01
	p	NS	***	***	NS	***	NS
PB	r	-	-0,41	-0,41	-0,23	0,12	0,14
	p		***	***	**	NS	NS
FAD	r	-	-	0,92	0,39	-0,67	-0,09
	p			***	***	***	NS
FND	r	-	-	-	0,72	-0,67	-0,08
	p				***	***	NS
HCEL	r	-	-	-	-	-0,39	-0,03
	p					***	NS
ALM	r	-	-	-	-	-	-0,40
	p						***

MS: materia seca; MO: materia orgánica (%MS); PB: proteína bruta (%MS); FND: fibra neutro deterxente (%MS); FAD: fibra ácido deterxente (%MS); HCEL: hemicelulosa (%MS); ALM: amidón (%MS); DMO: dixestibilidade da MO (%); r: coeficiente de correlación de Pearson; p: significación (*** p<0,001; ** p<0,01; * p<0,05; NS p>0,05: non significativo)

Ecuacións de predición de DMO baseadas en parámetros químicos

Como se indica na Táboa 44, os dous mellores modelos de predición de DMO integraban o contido en ALM e FND ou ALM e FAD. En ambos casos a porcentaxe de varianza explicada no proceso de validación cruzada foi baixa (38 e 36%, respectivamente), con valores do erro de predición $SECV$ de ±3,64 e ±3,72% que se consideran altos para esta forraxe. En validación externa a precisión das ecuacións foi moi baixa, con valores de r^2 de 0,24 e 0,25 e valores de SEP de ±3,94 e ±3,86% o que mostra a escasa robustez das ecuacións para realizar a predición sobre un colectivo de mostras independentes. Os baixos valores dos estatísticos RPD e RER tanto en validación cruzada como en validación externa (1,26 e 1,24 para o primeiro e 5,7 e 5,3 para o segundo), indican claramente a escasa fiabilidade das ecuacións empíricas para a estimación da dixestibilidade da materia orgánica das mostras de millo en estado fresco.

Táboa 44.- Ecuacións de predición da dixestibilidade da materia orgánica de planta enteira de millo en estado fresco en base a parámetros químicos

Ecuación				Calibración		Validación cruzada		Validación externa				
				R^2	SEC	1-VR	SECV	r^2	SEP	SEPc	Bias	Pend
DMO =	77,12	+0,60 ALM	-0,021 ALM x FND	0,39	3,64	0,38	3,67	0,24	3,94	3,92	-0,271	0,742
s.e.	*±1,16*	*±0,122*	*±0,030*									
P	***	***	***	***		***		***				
DMO =	77,26	+0,24 ALM	-0,027 ALM x FAD	0,37	3,70	0,36	3,72	0,25	3,86	3,85	-0,351	0,863
s.e.	*±1,22*	*±0,080*	*±0,041*									
P	***	***	***	***		***		***				

DMO: dixestibilidade da materia orgánica (%); MS: materia seca; FND: fibra neutro deterxente (%MS); FAD: fibra ácido deterxente (%MS); ALM: amidón (%MS); *s.e:* erro estándar; *P:* significación (*** $P<0,001$; ** $P<0,01$; * $P<0,05$*; NS* non significativo $P>0,05$); R^2: coeficiente de determinación do modelo de calibración; SEC: erro estándar de calibración; 1-VR: coeficiente de determinación en validación cruzada; SECV: erro estándar de validación cruzada; r^2: coeficiente de determinación en validación externa; SEP: erro estándar de predición; SEPc: erro estándar de predición corrixido por bias; Bias: diferencia media entre os valores observados e os preditos pola ecuación; Pend: pendente da regresión entre valores observados e preditos pola ecuación

4.1.4.2 Ecuacións NIRS para a predición da composición química e DMO

As características descritivas (media, desviación estándar e rango de variación) dos parámetros de composición química e DMO do colectivo de calibración e validación externa para o desenvolvemento de ecuacións NIRS se mostran na Táboa 45. O valor medio e a desviación estándar (en %MS) dos parámetros químicos das mostras de calibración e validación foron, respectivamente, para MO de 96,0±1,4 e 96,2±0,9, para PB de 6,5±1,1 e 6,6±0,9, para FAD de 25,7±3,9 e 25,1±4,0, para FND de 49,2±5,4 e 48,3±5,2 e para ALM de 24,7±9,1 e 25,6±8,1. Os valores medios de dixestibilidade da materia orgánica foron de 67,3±4,6% e 66,8±4,9% para os grupos de calibración e validación, respectivamente, mostrando a similitude nas características nutricionais en ambas coleccións.

O número de mostras anómalas eliminadas, expresadas en porcentaxe do total das mostras iniciais, oscilou entre 3,5% e 4,4% para as ecuacións de estimación de constituíntes químicos, non sendo eliminada ningunha mostra na construción do modelo preditivo para DMO. O pretratamento espectral que optimizou os modelos de predición foi SNV+D para corrección da dispersión seguido da utilización da primeira derivada do espectro para a estimación de MO, FND e FAD e a da segunda derivada para a estimación de PB, ALM e DMO.

Os valores do coeficiente de determinación $1-VR$ e do erro de predición en validación cruzada $SECV$ foron, respectivamente, de 0,83 e ±0,38% para MO, de 0,89 e ±0,35% para PB, de 0,94 e ±1,19% para FND, de 0,95 e ±0,88% para FAD, de 0,98 e ±1,36% para ALM e 0,90 e 1,47% para DMO. Atendendo ao criterio de Shenk *et al*. (2001) respecto do valor do coeficiente de determinación no proceso de validación cruzada como indicativo da calidade da calibración obtida, as ecuacións para a estimación de FND, FAD e ALM, con valores de $1-VR > 0{,}90$ son consideradas excelentes, mentres que para MO, PB e DMO, con valores de $1-VR$ por riba de 0,80 as ecuacións se categorizan como boas e aptas para predicións cuantitativas. Os valores de RPD_{vc} e RER_{vc} en validación cruzada foron, respectivamente, de 3,5 e 28,5 para MO, de 3,0 e 11,4 para PB, de 4,5 e 17,2 para FND, de 4,4 e 17,9 para FAD, de 6,7 e 29,9 para ALM e de 3,1 e 12,9 para DMO, mostrando un bo axuste na estimación do conxunto de mostras independentes, toda vez que para tódolos parámetros ditos estatísticos superaron os valores límite de 3,0 para RPD e de 10,0 para RER suxeridos por Williams

(2001) e por Williams e Sobering (1996) como indicativos dunha boa predición cuantitativa.

Para o conxunto de mostras independentes, a representación gráfica dos valores de referencia e os valores preditos polas ecuacións NIRS construídas para a estimación dos diferentes parámetros se mostran na Figura 7 (composición química) e na Figura 8 (DMO). Os valores do coeficiente de determinación r^2 e do erro de predición SEP foron, respectivamente, de 0,71 e ±0,47% para MO, de 0,90 e ±0,29% para PB, de 0,92 e ±1,50% para FND, de 0,95 e ±0,90% para FAD, de 0,97 e ±1,41% para ALM e de 0,87 e ±1,80% para DMO, superando para tódolos parámetros os límites establecidos por Windham *et al*. (1989) como indicativos dunha boa aptitude para estimación de valores de mostras independentes, no relativo a $r^2 \geq$ 0,60; $bias$= ±0,60 SEC e pendente entre 0,9 e 1,1. Só no caso da ecuación para estimar a concentración de PB o valor da pendente (0,87) se situou lixeiramente por debaixo do mínimo recomendado.

Os valores de RPD_{ve} e RER_{ve} en validación externa foron, respectivamente de 1,9 e 8,0 para MO, de 3,0 e 11,2 para PB, de 3,5 e 12,4 para FND, de 4,4 e 15,6 para FAD, de 5,7 e 22,6 para ALM e de 2,7 e 11,0 para DMO. Segundo o criterio de Williams (2014) e Williams e Sobering (1996) as ecuacións para a estimación de tódolos parámetros de composición química, a excepción de MO, permitirían unha boa predición cuantitativa en mostras independentes non representadas no conxunto de calibración, indicando modelos robustos para ser usados na práctica. A calidade da predición para MO sería deficiente, necesitando ser ampliada a variabilidade da colección de mostras utilizadas en calibración. A ecuación para a predición de DMO de mostras independentes mostrou un valor de RPD_{ve} de 2,7 e un valor de RER_{ve} de 11,0. Se ben o valor RPD_{ve} está algo por debaixo do umbral de calidade que indica unha excelente predición cuantitativa, o valor de RER_{ve}>10 avala a utilidade da ecuación para estimar en rutina a DMO de mostras problema cunha aceptábel fiabilidade (Williams, 2014).

Táboa 45.- Estatísticos de calibración e validación cruzada das ecuacións NIRS para estimación da composición química e da dixestibilidade da materia orgánica de mostras de planta enteira de millo en estado fresco

Parámetro	Scatter	Tratamento matemático	Calibración									Validación cruzada			
			n	Outliers	T	Media	SD	Min	Max	Rango	R^2	SEC	1-VR	SECV	RPDvc	RERvc
MO	SNV+D	1,4,4,1	113	4	8	96,0	1,4	87,2	98,3	11,1	0,88	0,33	0,83	0,39	3,5	28,5
PB	SNV+D	2,4,4,1	113	4	7	6,5	1,1	4,6	8,6	4,0	0,93	0,28	0,89	0,35	3,0	11,4
FND	SNV+D	1,4,4,1	113	4	9	49,2	5,4	38,0	58,5	20,5	0,97	0,91	0,94	1,19	4,5	17,2
FAD	SNV+D	1,4,4,1	113	5	9	25,7	3,9	18,1	33,9	15,8	0,97	0,69	0,95	0,88	4,4	17,9
ALM	SNV+D	2,10,10,1	113	3	7	24,7	9,1	3,3	44,0	40,7	0,99	1,08	0,98	1,36	6,7	29,9
DMO	SNV+D	2,10,10,1	96	0	8	67,3	4,6	58,0	77,0	19,0	0,94	1,16	0,90	1,47	3,1	12,9

Parámetro	Validación externa														
	n	Media	SD	Min	Max	Rango	r^2	SEP	SEPc	Bias	Pend.	RPDve	RERve	GH	NH
MO	38	96,2	0,9	94,0	97,8	3,8	0,71	0,47	0,48	0,01	0,91	1,9	8,0	1,00	0,30
PB	38	6,6	0,9	4,5	7,8	3,3	0,90	0,29	0,30	-0,02	0,87	3,0	11,2	1,00	0,30
FND	38	48,3	5,2	38,3	56,9	18,6	0,92	1,50	1,50	-0,22	0,95	3,5	12,4	1,00	0,30
FAD	38	25,1	4,0	17,4	31,4	14,0	0,95	0,90	0,85	-0,31	1,02	4,4	15,6	1,00	0,30
ALM	38	25,6	8,1	10,8	42,7	31,9	0,97	1,41	1,42	0,19	1,02	5,7	22,6	1,00	0,30
DMO	33	66,8	4,9	55,8	75,6	19,8	0,87	1,80	1,81	0,19	1,02	2,7	11,0	0,98	0,30

SNV+D: standard normal variate+detrend; n: número de observacións; Outliers: número de mostras anómalas eliminadas; T: número de factores da regresión; SD: desviación estándar; Min: valor mínimo; Max: valor máximo; SEC: erro estándar de calibración; R^2: coeficiente de determinación do modelo de calibración; SEC: erro estándar de calibración; 1-VR: coeficiente de determinación en validación cruzada; SECV: erro estándar de validación cruzada; RPDvc: ratio entre a desviación estándar e o erro de predición en validación cruzada; RERvc: ratio entre rango de valores e o erro de predición en validación cruzada; r^2: coeficiente de determinación en validación externa; SEP: erro estándar de predición; SEPc: erro estándar de predición corrixido por bias; Bias: diferencia media entre os valores observados e os preditos pola ecuación; Pend: pendente da regresión; RPDve: ratio entre a desviación estándar e o erro de predición en validación externa; RERve: ratio entre rango de valores e o erro de predición en validación externa; GH e NH: distancias de Mahalanobis; MS: materia seca; MO: materia orgánica (%MS); PB: proteína bruta (%MS); FND: fibra neutro deterxente (%MS); FAD: fibra ácido deterxente (%MS); ALM: amidón (%MS); DMO: dixestibilidade da materia orgánica (%)

Figura 7.- Plot de valores de composición química medidos polos métodos de referencia e de valores preditos polas ecuacións NIRS en validación externa para mostras de planta enteira de millo en estado fresco

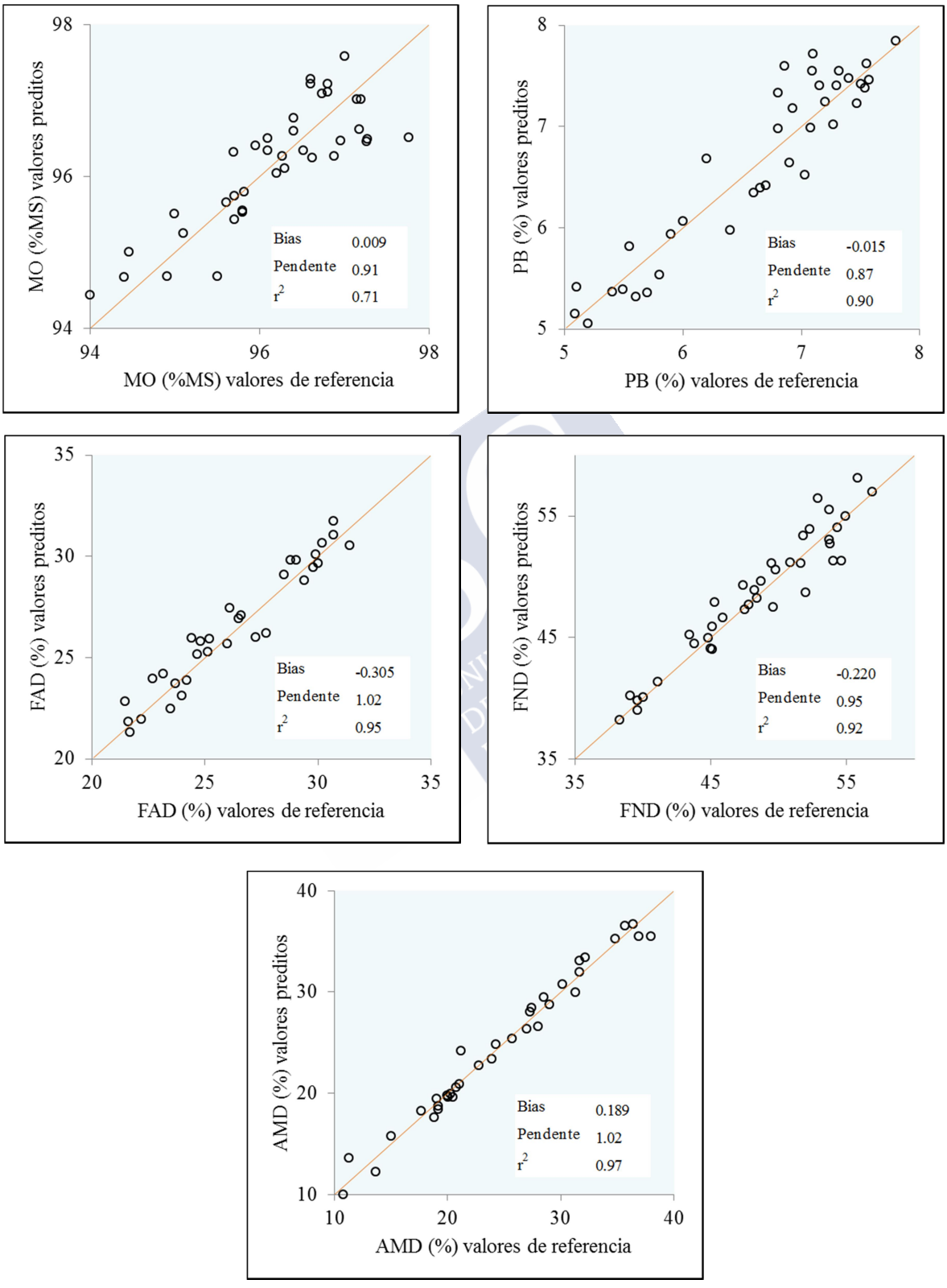
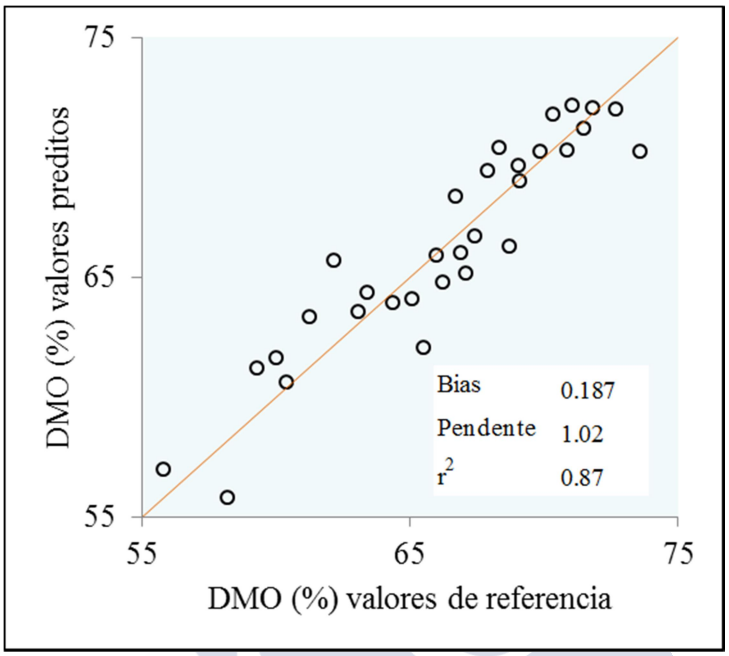


Figura 8.- Plot de valores de dixestibilidade da materia orgánica medidos polo método de referencia e de valores preditos polas ecuacións NIRS en validación externa para mostras de planta enteira de millo en estado fresco



4.1.5 Planta enteira de sorgo e as súas fraccións en estado fresco

4.1.5.1 Ecuacións empíricas para a predición de DMO

Valores medios da colección

Na Táboa 46 se pode observar a media, desviación típica, coeficiente de variación e rango de valores para a composición química e DMO do colectivo total de mostras (n=71) das que se dispoñía o valor de referencia de DMO. As mostras de planta enteira constituían o 70% do total, repartíndose o resto entre mostras de inflorescencia (panícula) e parte vexetativa (plantas desprovistas de inflorescencia, follas e talos). Os contidos medios (e rango de variación), foron (en % MS), MO: 94,2 (88,6 a 97,4), PB: 7,6 (3,5 a 16,2), FND: 60,3 (37,2 a 79,2), FAD: 31,1 (16,2 a 39,1), HCEL: 29,1 (19,9 a 40,2), ALM: 8,9 (0,0 a 45,4), CNET: 23,8 (9,1 a 55,6) e CSA: 12,7 (2,7 a 27,4). O valor medio de DMO foi 63,2%, oscilando os valores mínimo e máximo entre 53,8 a 77,6%. A variabilidade da colección, sobre todo no contido en amidón, proteína e carbohidratos non estruturais así como na dixestibilidade, en menor medida, se incrementou pola inclusión na colección de mostras de parte vexetativa e inflorescencias de plantas maduras, ademais de incluír mostras de variedades de grao e forraxeiras así como de variedades *bmr*, de maior dixestibilidade, procedentes de distintos ensaios. Os contidos en ALM, CSA, CNET e PB foron os parámetros de maior variabilidade, con valores do coeficiente de variación de 111,1%, 55,4%, 37,6%, e 32,1%, respectivamente, mentres que a concentración de MO foi o menos variábel (CV= 1,8%), sendo intermedia a das distintas fraccións da fibra, con valores de CV de 13,8% para FND, 14,0% para FAD e 15,3% para HCEL. A variabilidade da DMO cun valor do CV de 10,3% se situou a un nível inferior da observada para os parámetros de composición química, a excepción do contido en materia orgánica.

Correlacións entre composición química e dixestibilidade

Como se indica na Táboa 47, foi observada unha moderada pero significativa correlación negativa (p<0,001) entre os valores de DMO e as distintas fraccións de fibra, con valores do coeficiente de correlación r de -0,47 para FND, de -0,49 para FAD, e de -0,39 para HCEL. Tamén se observou unha correlación aproximadamente da mesma magnitude, pero de signo positivo, entre o valor de DMO e o de materia orgánica e a concentración de carbohidratos non estruturais, con valores de r de 0,47

para MO, de 0,46 para CNET e de 0,48 para CSA. O coeficiente de correlación entre DMO e os contidos de proteína e amidón foi moi baixa e non acadou significación.

Táboa 46.- Composición química e dixestibilidade da colección de mostras de planta enteira de sorgo e os seus compoñentes morfolóxicos, en estado fresco, utilizadas para a obtención das ecuacións empíricas

Parámetro	n	Media	SD	CV	Max	Min
MO	71	94,2	1,7	1,8	97,4	88,6
PB	71	7,6	2,4	32,1	16,2	3,5
FND	71	60,3	8,3	13,8	79,2	37,2
FAD	71	31,1	4,3	14,0	39,1	16,2
HCEL	71	29,1	4,5	15,3	40,2	19,9
ALM	71	8,9	9,9	111,1	45,4	0,0
CNET	71	23,8	8,9	37,6	55,6	9,1
CSA	71	12,7	7,0	55,4	27,4	2,7
DMO	71	63,2	6,5	10,3	77,6	53,8

MS: materia seca; MO: materia orgánica (%MS); PB: proteína bruta (%MS); FND: fibra neutro deterxente (%MS); FAD: fibra ácido deterxente (%MS); HCEL: hemicelulosa (%MS); CNET: carbohidratos non estruturais: CSA: carbohidratos solúbeis; DMO: dixestibilidade da MO (%); n: número de mostras; SD: desviación estándar; CV: coeficiente de variación; Max: valor máximo; Min: valor mínimo

Táboa 47.- Matriz de correlacións entre parámetros de composición química e dixestibilidade da materia orgánica da colección de planta enteira de sorgo e os seus compoñentes morfolóxicos, en estado fresco

		PB	FND	FAD	HCEL	ALM	CNET	CSA	DMO
MO	r	-0,61	-0,55	-0,51	-0,53	0,28	0,69	0,53	0,47
	p	***	***	***	***	*	***	***	***
PB	r	-	0,22	-0,02	0,43	0,17	-0,37	-0,71	-0,17
	p		NS	NS	***	NS	**	***	NS
FND	r	-	-	0,94	0,94	-0,78	-0,94	-0,10	-0,47
	p			***	***	***	***	NS	***
FAD	r	-	-	-	0,77	-0,82	-0,89	0,06	-0,49
	p				***	***	***	NS	***
HCEL	r	-	-	-	-	-0,65	-0,88	-0,25	-0,39
	p					***	***	*	***
ALM	r	-	-	-	-	-	0,72	-0,49	0,09
	p						***	***	NS
CNET	r	-	-	-	-	-	-	0,20	0,46
	p							NS	***
CSA	r	-	-	-	-	-	-	-	0,48
	p								***

MS: materia seca; MO: materia orgánica (%MS); PB: proteína bruta (%MS); FND: fibra neutro deterxente (%MS); FAD: fibra ácido deterxente (%MS); HCEL: hemicelulosa (%MS); ALM: amidón; CNET: carbohidratos non estruturais: CSA: carbohidratos solúbeis; DMO: dixestibilidade da materia orgánica (%); r: coeficiente de correlación de Pearson; p: significación (*** p<0,001; ** p<0,01; * p<0,05; NS p>0,05: non significativo)

Se salienta a alta correlación negativa entre os valores de carbohidratos estruturais e non estruturais (valores de r de -0,94, -0,89 e -0,88 entre CNET e FND, FAD e HCEL,

respectivamente) reflectindo parcialmente o resultado do proceso de maduración da planta, onde a proporción da fracción fibra na MS tende a reducirse co incremento a acumulación de azucres e amidón na planta, así como da presenza de distintas fraccións da planta na colección.

Ecuacións de predición de DMO baseadas en parámetros químicos

As ecuacións de predición da dixestibilidade da materia orgánica baseadas en análises químicas da poboación de mostras de planta enteira de sorgo e as súas fraccións mostraron unha moderada capacidade preditiva (Táboa 48). Os mellores modelos de dúas variábeis, que incluíron FAD e CSA ou FAD e ALM como preditores, explicaron en validación cruzada o 56% e o 53% da varianza cun erro de predición de ±4,18 e ±4,42%, respectivamente. A eliminación de CSA ou ALM da ecuación reduciu a porcentaxe de varianza explicada até o 34% e aumentou o erro até ±5,01% para o modelo univariábel con FAD como único preditor.

En validación externa, o axuste das ecuacións empeorou notablemente, con valores de r^2 e de SEP de 0,44 e ±5,74% e de 0,40 e ±5,51% para as ecuacións con dúas variábeis e de 0,21 e ±6,14% para ecuación univariábel con FAD como único preditor. Os valores dos estatísticos RPD_{ve} e RER_{ve} en validación externa oscilaron entre 1,17 e 1,05 para o primeiro e entre 4,3 e 3,8 para o segundo. Atendendo aos criterios que xulgan a calidade das ecuacións en base a estes valores (Williams, 2003) os valores de RPD inferiores a 1,5 indican que o modelo non sería de utilidade para a predición de mostras independentes, o que sería coincidente co criterio de Shenk *et al*. (2001) e de Shenk e Westerhaus (1991b) que sitúan un limiar de 0,60 no valor mínimo do coeficiente de determinación en validación externa para que o modelo poida ser usado de forma fiábel na estimación en rutina de mostras problema.

Táboa 48.- Ecuacións de predición da dixestibilidade da materia orgánica en base a parámetros químicos da colección de planta enteira de sorgo e os seus compoñentes morfolóxicos, en estado fresco

Ecuación					Calibración		Validación cruzada		Validación externa				
					R^2	SEC	1-VR	SECV	r^2	SEP	SEPc	Bias	Pend
DMO =		57,41	+3,54 CSA	-0,099 FAD x CSA	0,59	4,18	0,56	4,29	0,44	5,74	5,53	-1,508	0,792
	s,e	*±1,03*	*±0,398*	*±0,0125*									
	P	***	***	***	***		***		***				
DMO =		128,53	-1,92 FAD	-0,634 ALM	0,55	4,42	0,47	4,74	0,40	5,51	5,49	0,415	0,749
	s,e	*±7,28*	*±0,211*	*±0,093*									
	P	***	***	***	***		***		***				
DMO =		86,20	-0,74 FAD		0,38	4,88	0,34	5,01	0,21	6,14	6,09	0,795	0,799
	s,e	*±4,92*	*±0,156*										
	P	***	***		***		***		NS				

DMO: dixestibilidade da materia orgánica (%); MS: materia seca; FAD: fibra ácido deterxente (%MS); CSA: carbohidratos solúbeis en auga (%MS); ALM: amidón (%MS); *P:* significación (*** P<0,001; ** P<0,01; * P<0,05; *NS* non significativo P>0,05); R^2: coeficiente de determinación do modelo de calibración; SEC: erro estándar de calibración; 1-VR: coeficiente de determinación en validación cruzada; SECV: erro estándar de validación cruzada; r^2: coeficiente de determinación en validación externa; SEP: erro estándar de predición; SEPc: erro estándar de predición corrixido por bias; Bias: diferencia media entre os valores observados e os preditos pola ecuación; Pend: pendente da regresión entre valores observados e preditos pola ecuación

4.1.5.2 Ecuacións NIRS para a predición da composición química e DMO

As características descritivas dos parámetros de composición química e DMO do colectivo de calibración (n=126) e validación externa (n=45) para o desenvolvemento de modelos de predición NIRS se mostran na Táboa 49. A composición química media (e rango de variación) das mostras de calibración e validación expresadas en %MS, foron, respectivamente, MO 94,5 (83,7 a 97,9) e 94,1 (89,1 a 97,9), PB 8,9 (3,5 a 21,1) e 9,43 (3,8 a 20,2), FND 57,5 (28,4 a 79,2) e 58,4 (30,0 a 78,3), FAD 29,4 (12,0 a 39,5) e 29,5 (13,8 a 38,5), CNET 25,2 (4,7 a 65,3) e 24,1 (4,29 a 62,6), CSA 11,8 (1,5 a 27,4) e 10,9 (1,28 a 24,5) e ALM 11,0 (0,0 a 56,2) e 10,5 (0,0 a 54,4). Os valores medios de dixestibilidade da materia orgánica foron 63,3% e 62,4% para a colección de calibración e validación, respectivamente, con rangos de variación de 55,1 a 77,6% para o primeiro grupo e de 53,81 a 73,5% para o segundo. Se observa un amplo intervalo de variabilidade para todos os parámetros, tanto no colectivo de calibración como no de validación externa, confirmando a elevada diversidade de mostras incluídas neste produto, tanto mostras de planta enteira como dos diferentes compoñentes morfolóxicos que conforman a planta enteira de sorgo.

As ecuacións de predición para tódolos parámetros obtivéronse con SNV+D como pretratamento espectral para corrixir o efecto da dispersión da luz ou *scatter* debido a diferenzas no tamaño de partícula ou de compresión das mostras na cápsula. Os mellores modelos para a predición da concentración dos carbohidratos non estruturais (CNET, CSA e ALM) se obtiveron utilizando a primeira derivada do espectro, mentres que para a estimación dos restantes parámetros (MO, PB, FND, FAD e DMO) as ecuacións se viron optimizadas mediante o uso da segunda derivada. O número de mostras anómalas eliminadas do conxunto de calibración respecto do número inicial de mostras oscilou entre 5,1 e 3,9% para as calibracións NIRS para estimar os parámetros químicos, sendo do 1,9% para DMO.

As calibracións NIRS obtidas para a predición de todos os parámetros mostraron valores dos coeficientes de determinación iguais ou superiores a 0,90, tanto na etapa de validación cruzada ($1-VR$) como na de validación externa (r^2), indicando unha calidade excelente, segundo o indicado por Shenk *et al*. (2001) e Williams (2001). As ecuacións NIRS para e predición de PB, CNET, CSA e ALM presentaron, na etapa de validación externa, a maior porcentaxe de varianza explicada (99%), seguidos das

ecuacións para estimar os contidos en FND e FAD (98%) e MO (97%) así como o valor de DMO (90%). Os valores de $SECV$ e SEP foron, respectivamente, de ±0,38 e ±0,36% para MO, de ±0,31 e ±0,31% para PB, de ±1,44 e ±1,35% para FND, de ±0,90 e ±0,85% para FAD, de ±1,21 e ±1,18% para CNET, de ±0,83 e ±0,72% para CSA, de ±1,38 e ±1,36% para ALM, sendo de ±1,93 e ±1,73% para DMO. A relación entre $SECV$ e SEC oscilou entre 1,06 e 1,32, dentro de intervalo sinalado por Burns e Ciurczak (1992) como indicativo de calibracións NIRS robustas.

Os valores do estatísticos RPD e RER, tanto no proceso de validación cruzada como no de validación externa, superan amplamente os valores mínimos recomendado (3 para RPD e 10 para RER) por Williams e Sobering (1996) e Williams (2014), confirmando a boa capacidade de predición cuantitativa das ecuacións e asegurando a validez das mesmas na aplicación a futuras mostras independentes.

A representación gráfica dos valores de referencia e dos valores preditos polas ecuacións NIRS obtidos na etapa de validación externa se mostra nas Figura 9a e 9b (parámetros de composición química) e na Figura 10 (dixestibilidade da materia orgánica), onde se pode observar o bo axuste conseguido polos modelos de predición que cumpriron cos criterios indicados por Windham *et al.* (1989), Shenk *et al.* (2001) e Shenk e Westerhaus (1991b) relativos aos límites recomendados para que as ecuacións se consideren fiábeis e se poidan utilizar en análises de rutina. A este respecto, os valores da pendente da regresión entre os valores observados e preditos, os do $bias$ e os do SEP_c estiveron dentro dos intervalos recomendados (pendente entre 0,9 e 1,1; $bias$= ±0,60 SEC e SEP_c < 1,30 SEC), mentres que os valores de r^2 das ecuacións para a estimación dos parámetros de composición química e DMO superaron amplamente o valor límite de 0,60 mostrando o bo comportamento preditivo das ecuacións NIRS para a predición do valor nutricional de mostras de sorgo en estado fresco.

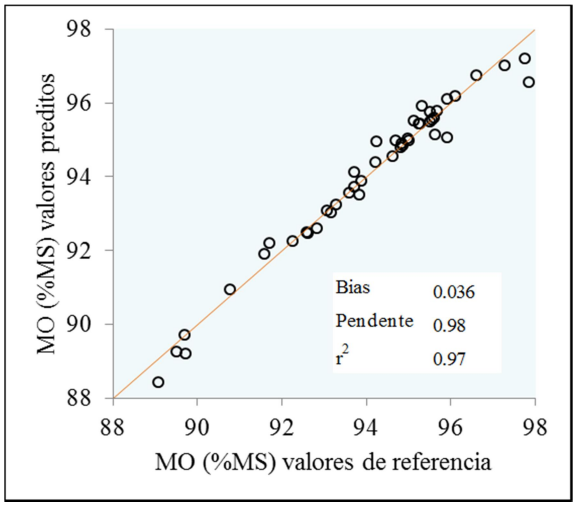
Táboa 49.- Estatísticos de calibración e validación cruzada das ecuacións NIRS para estimación da composición química e da dixestibilidade da materia orgánica de mostras de planta enteira de sorgo e os seus compoñentes morfolóxicos, en estado fresco

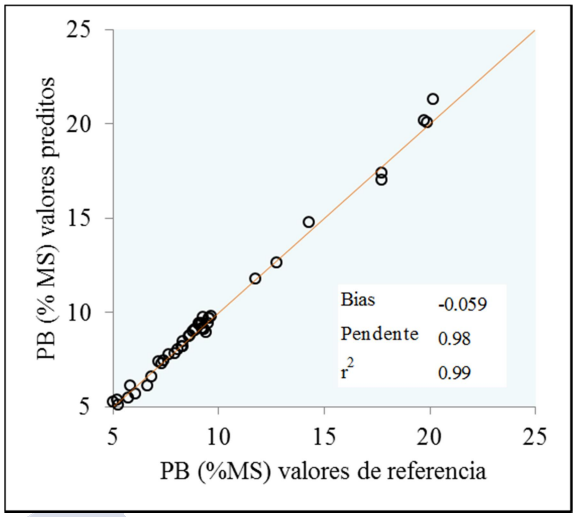
Parámetro	Scatter	Tratamento matemático	Calibración										Validación cruzada			
			n	Outliers	T	Media	SD	Min	Max	Rango	R^2	SEC	1-VR	SECV	RPDvc	RERvc
MO	SNV+D	2,6,4,1	126	9	5	94,5	2,3	83,7	97,9	14,2	0,97	0,31	0,95	0,38	6,2	37,5
PB	SNV+D	2,4,4,1	126	6	8	8,9	3,4	3,5	21,1	17,6	0,99	0,30	0,99	0,31	10,9	56,0
FND	SNV+D	2,6,4,1	126	6	8	57,5	9,9	28,4	79,2	50,9	0,99	1,20	0,99	1,44	6,8	35,2
FAD	SNV+D	2,4,4,1	126	7	3	29,4	5,9	12,0	39,5	27,5	0,98	0,83	0,98	0,90	6,5	30,7
CNET	SNV+D	1,4,4,1	125	5	4	25,2	12,8	4,7	65,3	60,6	0,99	1,13	0,99	1,21	10,6	50,2
CSA	SNV+D	1,10,5,1	125	5	9	11,8	6,4	1,5	27,4	25,9	0,99	0,63	0,99	0,83	7,8	31,4
ALM	SNV+D	1,10,5,1	126	5	9	11,0	14,2	0,0	56,2	56,2	0,99	1,13	0,99	1,38	10,3	40,8
DMO	SNV+D	2,10,5,1	51	1	6	63,3	6,9	55,1	77,6	22,6	0,94	1,64	0,92	1,93	3,6	11,7

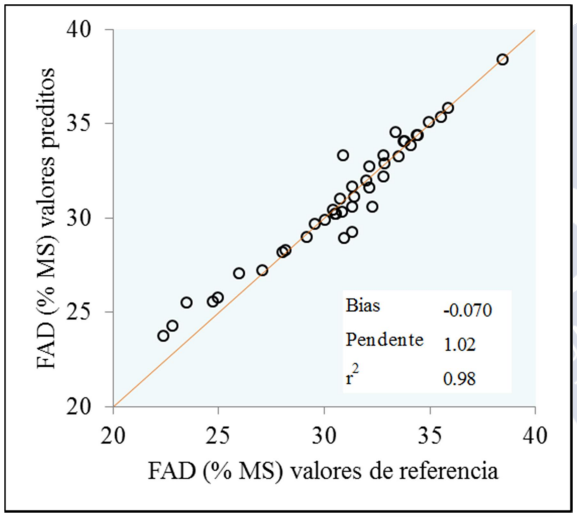
Parámetro	Validación externa														
	n	Media	SD	Min	Max	Rango	r^2	SEP	SEPc	Bias	Pend.	RPDve	RERve	GH	NH
MO	45	94,11	2,12	89,09	97,86	8,77	0,97	0,362	0,37	0,04	0,98	5,85	24,23	1,13	0,38
PB	45	9,43	3,99	3,81	20,18	16,37	0,99	0,313	0,31	-0,06	0,98	12,74	52,30	1,13	0,38
FND	45	58,36	9,94	29,99	78,73	48,74	0,98	1,351	1,35	-0,19	0,99	7,35	36,08	1,13	0,38
FAD	45	29,53	5,66	13,84	38,48	24,64	0,98	0,852	0,86	-0,07	1,02	6,64	28,92	1,13	0,38
CNET	45	24,14	13,28	4,29	62,58	58,29	0,99	1,180	1,00	0,08	1,00	11,25	49,40	1,13	0,38
CSA	45	10,86	6,36	1,28	24,50	23,22	0,99	0,715	0,67	0,25	0,98	8,89	32,48	1,13	0,38
ALM	45	10,52	14,53	0,00	54,40	54,40	0,99	1,362	1,37	-0,27	1,00	10,67	39,94	1,13	0,38
DMO	20	62,42	5,47	53,81	73,50	19,69	0,90	1,725	1,77	0,08	1,00	3,17	11,41	0,92	0,43

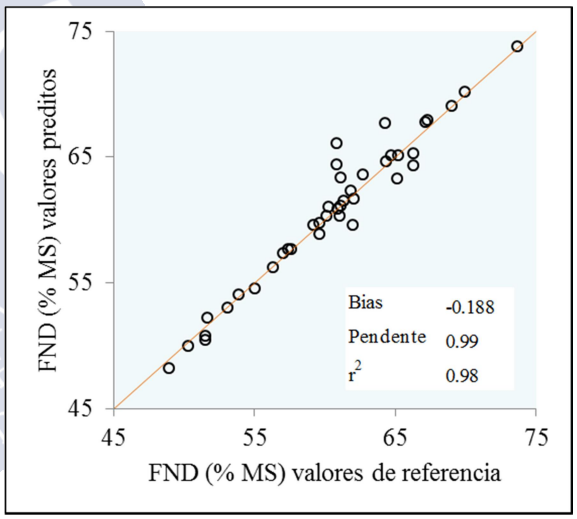
SNV+D: standard normal variate+detrend; n: número de observacións; Outliers: número de mostras anómalas eliminadas; T: número de factores da regresión; SD: desviación estándar; Min: valor mínimo; Max: valor máximo; SEC: erro estándar de calibración; R^2: coeficiente de determinación do modelo de calibración; SEC: erro estándar de calibración; 1-VR: coeficiente de determinación en validación cruzada; SECV: erro estándar de validación cruzada; RPDvc: ratio entre a desviación estándar e o erro de predición en validación cruzada; RERvc: ratio entre rango de valores e o erro de predición en validación cruzada; r^2: coeficiente de determinación en validación externa; SEP: erro estándar de predición; SEPc: erro estándar de predición corrixido por bias; Bias: diferencia media entre os valores observados e os preditos pola ecuación; Pend: pendente da regresión; RPDve: ratio entre a desviación estándar e o erro de predición en validación externa; RERve: ratio entre rango de valores e o erro de predición en validación externa; GH e NH: distancias de Mahalanobis; MS: materia seca; MO: materia orgánica (%MS); PB: proteína bruta (%MS); FND: fibra neutro deterxente (%MS); FAD: fibra ácido deterxente (%MS); CNET: carbohidratos non estruturais (%MS); CSA: carbohidratos solúbeis en auga (%MS); ALM: amidón (%MS); DMO: dixestibilidade da materia orgánica (%)

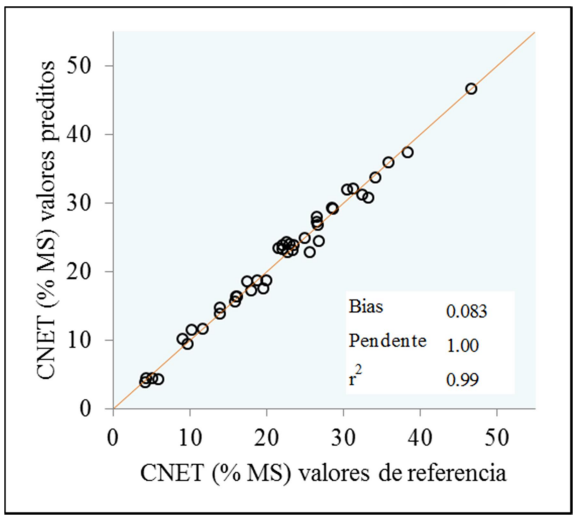
Figura 9a.- Plot de valores de composición química medidos polos métodos de referencia e de valores preditos polas ecuacións NIRS para mostras de planta enteira de sorgo e os seus compoñentes morfolóxicos, en estado fresco











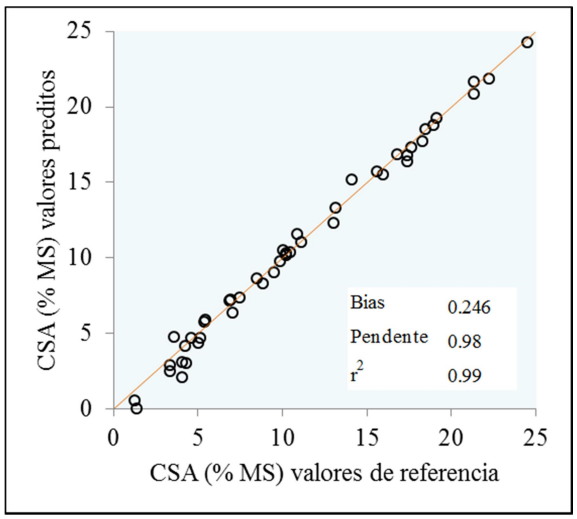


Figura 9b.- Plot de valores de composición química medidos polos métodos de referencia e de valores preditos polas ecuacións NIRS para mostras de planta enteira de sorgo e os seu compoñentes morfolóxicos, en estado fresco (Continuación)

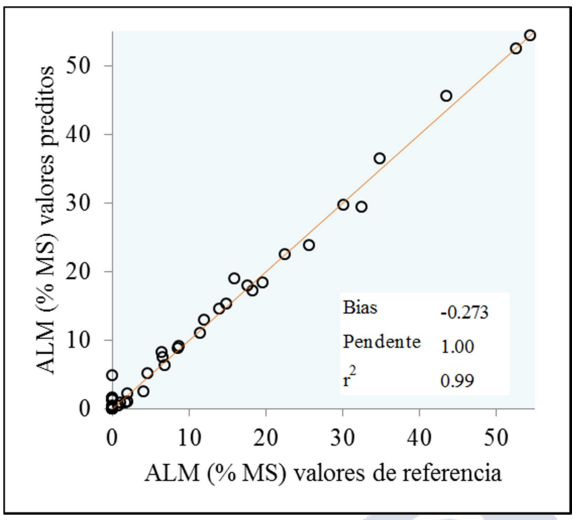
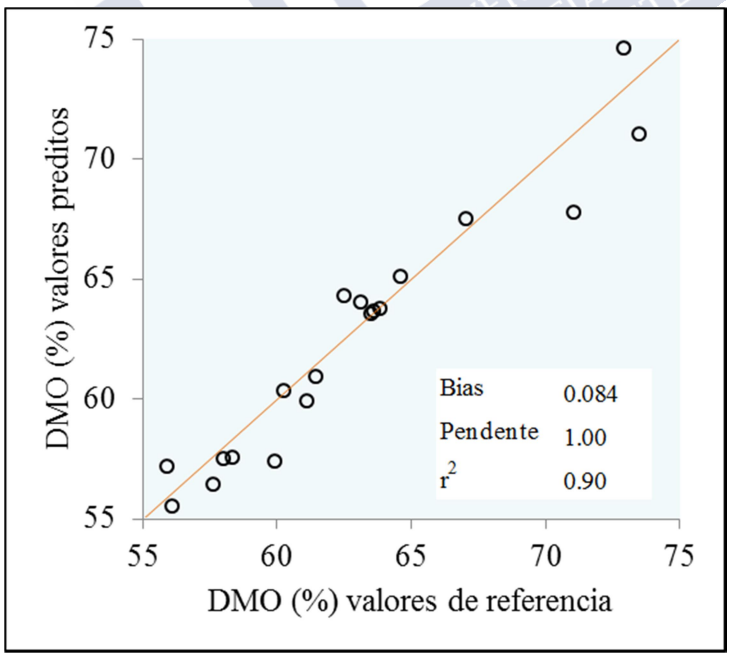


Figura 10.- Plot de valores de dixestibilidade da materia orgánica medidos polo método de referencia e de valores preditos polas ecuacións NIRS para mostras de planta enteira de sorgo e os seus compoñentes morfolóxicos, en estado fresco



4.1.6 Planta enteira de xirasol en estado fresco e compoñentes morfolóxicos

4.1.6.1 Ecuacións empíricas para a predición de DMO

Valores medios da colección

As características descritivas da colección de mostras (n=112) de planta enteira de xirasol das que se dispoñía os datos da DMO e a composición química, se mostran na Táboa 50. Un 20% das mostras eran de planta enteira, e o resto se repartía en proporcións aproximadamente iguais de parte vexetativa (plantas desprovistas do capítulo, follas e talos) e de inflorescencia (capítulos con distinta proporción de froito). Os contidos medios (e rango de variación), expresados sobre %MS, foron, MO: 84,4 (76,8 a 97,3), PB: 8,0 (2,3 a 19,7), FND: 43,3 (22,2 a 74,1), FAD: 33,7 (17,9 a 61,9), CEL: 27,7 (10,5 a 51,5), LAD: 6,7 (2,5 a 14,0), EE: 11,7 (0,0 a 52,4), CNET: 13,3 (0,7 a 38,4) e CSA: 12,7 (0,8 a 36,5). A dixestibilidade da materia orgánica mostrou un valor medio de 52,6%, oscilando entre 31,8 a 73,9%. Na Táboa 51 se mostran os valores medios da planta enteira e das distintas fraccións da planta de xirasol, sendo de salientar o alto contido medio en PB das follas, a variabilidade do contido en EE na inflorescencia e sementes e a súa relación inversa co contido en CNET e CSA e a baixa dixestibilidade e contido proteico medio da parte vexetativa, en particular dos talos.

Táboa 50.- Composición química e dixestibilidade da colección de mostras de planta enteira de xirasol e os seus compoñentes morfolóxicos, en estado fresco

Parámetro	n	Media	SD	CV	Max	Min
MO	112	88,4	4,7	5,3	97,3	76,8
PB	112	8,0	4,2	52,2	19,7	2,3
FND	112	43,3	13,0	30,0	74,1	22,2
FAD	112	33,7	9,2	27,2	61,9	17,9
CEL	112	27,7	9,3	33,5	51,5	10,5
LAD	112	6,7	2,3	35,0	14,0	2,5
EE	112	11,7	13,9	119,0	52,4	0,0
CNET	112	13,3	9,4	70,9	38,4	0,7
CSA	112	12,7	9,2	72,2	36,5	0,8
DMO	112	52,6	12,6	23,9	73,9	31,8

MS: materia seca; MO: materia orgánica (%MS); PB: proteína bruta (%MS); FND: fibra neutro deterxente (%MS); FAD: fibra ácido deterxente (%MS); CEL: celulosa (%MS); LAD: lignina ácido deterxente; EE: extracto etéreo (%MS); CNET: carbohidratos non estruturais: CSA: carbohidratos solúbeis; DMO: dixestibilidade da MO (%); n: número de mostras; SD: desviación estándar; CV: coeficiente de variación; Max: valor máximo; Min: valor mínimo

Dada a composición da colección de mostras, tódolos parámetros mostraron un coeficiente de variación comparativamente máis elevado que o observado para as

coleccións doutras forraxes analizadas no presente traballo, en particular para a DMO (CV=23,9%). A maior variación se observou para o contido en EE, CNET, CSA e PB (CV=119,0; 70,9; 72,2 e 52,2%, respectivamente) e o menor para o contido en MO (CV=5,3%), sendo intermedios os das fraccións da fibra (FND, FAD e CEL) e a lignina (CV=30,0; 27,2; 33,5 e 35,0%, respectivamente).

Táboa 51.- Composición das distintas fraccións da planta de xirasol en estado fresco

	MO	PB	FAD	FND	CEL	LAD	EE	CNET	CSA	DMO
Planta enteira										
Media	89,9	9,3	33,6	42,7	26,4	8,4	14,8	15,5	14,3	62,7
Max	92,7	16,6	40,2	52,2	34,2	11,9	44,1	26,1	23,3	69,1
Min	80,7	5,9	23,9	32,0	17,4	4,7	1,4	5,1	4,0	48,9
SD	3,5	3,3	4,3	5,2	4,6	2,2	10,8	5,2	4,8	4,9
CV	3,9	35,9	12,9	12,1	17,3	26,4	73,2	33,4	33,6	7,8
Parte vexetativa										
Media	89,8	4,1	42,9	58,3	37,4	6,1	1,0	10,8	10,4	44,2
Max	97,3	7,9	54,2	71,8	46,2	8,8	1,6	31,4	31,7	60,8
Min	86,3	2,3	33,5	46,0	29,1	3,4	0,7	0,7	0,8	31,8
SD	2,1	1,3	5,8	6,5	4,9	1,5	0,2	8,5	8,4	7,9
CV	2,4	31,8	13,5	11,1	13,0	23,9	21,9	78,6	81,2	17,8
Capítulo										
Media	88,8	8,7	27,9	32,1	22,6	5,8	21,6	14,9	14,2	50,8
Max	95,1	13,7	37,8	39,3	34,4	10,2	39,1	38,4	36,5	73,9
Min	78,5	6,1	20,1	26,9	15,1	2,5	2,6	3,1	3,1	35,3
SD	5,0	1,7	4,4	2,9	4,9	1,7	12,6	10,9	10,5	13,1
CV	5,7	20,1	15,7	8,9	21,5	29,1	58,6	73,3	73,6	25,9
Follas										
Media	79,8	13,6	29,4	31,1	21,1	8,1	3,4	11,2	11,6	68,0
Max	88,3	19,7	45,9	39,8	41,7	14,0	4,8	36,7	36,2	71,7
Min	76,8	6,0	21,5	22,2	13,6	2,9	2,1	2,0	2,0	59,4
SD	3,1	4,1	6,9	5,7	8,3	3,6	0,8	7,6	7,6	4,0
CV	3,9	30,1	23,5	18,2	39,6	44,0	24,2	68,0	65,3	5,9
Talo										
Media	92,9	1,6	54,8	69,2	48,3	7,1	0,5	12,1	11,6	41,0
Max	95,3	3,1	63,7	80,1	57,5	10,5	0,7	30,5	30,6	49,3
Min	89,7	1,0	42,6	57,2	38,4	4,5	0,3	1,8	2,0	32,7
SD	1,6	0,7	8,1	8,2	6,7	2,0	0,1	10,6	10,7	11,7
CV	1,7	47,2	14,8	11,8	13,9	28,4	22,2	87,4	92,0	28,5
Receptáculo										
Media	86,4	7,3	28,8	33,7	23,5	5,6	3,7	16,7	15,0	65,4
Max	92,4	17,7	37,1	40,0	33,0	13,7	7,2	34,5	34,5	72,4
Min	81,9	3,6	20,4	27,2	10,5	2,5	2,3	3,3	3,0	58,5
SD	3,4	4,6	5,3	3,8	7,3	3,3	1,4	11,2	11,5	7,1
CV	4,0	62,5	18,5	11,3	31,1	58,9	38,1	66,9	76,7	10,8
Semente										
Media	96,6	11,2	21,3	28,2	16,1	6,3	37,9	16,1	14,4	-
Max	97,5	12,7	26,3	35,3	20,7	8,1	57,2	45,0	43,9	-
Min	94,9	9,0	16,7	21,8	12,4	4,8	2,0	3,5	3,0	-
SD	0,9	1,3	3,8	5,2	3,3	1,0	21,5	16,4	16,5	-
CV	0,9	11,4	17,8	18,6	20,5	16,2	56,8	101,3	114,5	-

MS: materia seca; MO: materia orgánica (%MS); PB: proteína bruta (%MS); FND: fibra neutro deterxente (%MS); FAD: fibra ácido deterxente (%MS); CEL: celulosa (%MS); LAD: lignina ácido deterxente; EE: extracto etéreo (%MS); CNET: carbohidratos non estruturais; CSA: carbohidratos solúbeis; DMO: dixestibilidade da MO (%); n: número de mostras; SD: desviación estándar; CV: coeficiente de variación; Max: valor máximo; Min: valor mínimo

Correlacións entre composición química e dixestibilidade

Na Táboa 52 se mostra a matriz de correlacións entre parámetros químicos e a dixestibilidade da MO da colección de mostras de xirasol e as súas fraccións. Se observou unha significativa (p<0,001) correlación positiva entre o valor de DMO e os contidos de CNET e CSA (r=0,67 en ambos casos) e con PB (r=0,53) e unha correlación negativa, de menor intensidade pero tamén altamente significativa (p<0,001), cos contidos de FND e FAD (r= -0,52 e -0,51, respectivamente). Para o grupo de planta enteira, o valor do coeficiente de correlación de DMO coas concentracións de FND e FAD foi de -0,66 e de -0,55, mentres que coas de CNET, CSA e PB foi de 0,58, 0,59 e 0,39 reproducindo aproximadamente as relacións obtidas para o conxunto da colección e mostrando o efecto da madurez sobre a redución da DMO da planta enteira de xirasol, coincidindo cun progresivo incremento das fraccións fibrosas e un descenso no contido en proteína e de carbohidratos non estruturais, transformados parcialmente en aceite que se acumula nas sementes da planta.

Táboa 52.- Matriz de correlacións entre parámetros de composición química e dixestibilidade da materia orgánica da colección de planta enteira de xirasol e os seus compoñentes morfolóxicos, en estado fresco

		PB	FND	FAD	CEL	LAD	EE	CNET	CSA	DMO
MO	r	-0,48	0,16	0,14	0,16	-0,27	-0,12	0,51	0,48	0,07
	p	***	NS	NS	NS	**	NS	***	***	NS
PB	r	-	-0,71	-0,68	-0,76	0,29	0,46	-0,01	0,00	0,53
	p		***	***	***	**	***	NS	NS	***
FND	r	-	-	0,89	0,87	-0,03	-0,59	-0,31	-0,31	-0,52
	p			***	***	NS	***	***	***	***
FAD	r	-	-	-	0,94	0,14	-0,56	-0,27	-0,28	-0,51
	p				***	NS	***	**	**	***
CEL	r	-	-	-	-	-0,10	-0,14	-0,15	0,24	-0,39
	p					NS	NS	NS	**	***
LAD	r	-	-	-	-	-	-0,10	-0,14	-0,15	0,24
	p						NS	NS	NS	**
EE	r	-	-	-	-	-	-	-0,31	-0,31	-0,14
	p							***	***	NS
CNET	r	-	-	-	-	-	-	-	0,99	0,67
	p								***	***
CSA	r	-	-	-	-	-	-	-	-	0,67
	p									***

MS: materia seca; MO: materia orgánica (%MS); PB: proteína bruta (%MS); FND: fibra neutro deterxente (%MS); FAD: fibra ácido deterxente (%MS); CEL: celulosa (%MS); LAD: lignina ácido deterxente; EE: extracto etéreo (%MS); CNET: carbohidratos non estruturais: CSA: carbohidratos solúbeis; DMO: dixestibilidade da MO (%); r: coeficiente de correlación de Pearson; p: significación (*** p<0,001; ** p<0,01; * p<0,05; NS p>0,05: non significativo)

Ecuacións de predición de DMO baseadas en parámetros químicos

A Táboa 53 mostra os estatísticos de regresión para os diferentes modelos que inclúen os parámetros químicos como preditores, ordenadas dentro de cada grupo en orde decrecente de varianza explicada polo modelo no proceso de calibración (R^2).

O modelo multivariábel con maior varianza explicada no proceso de validación externa, que inclúe a concentración de CNET, EE e PB como preditores, mostrou en validación cruzada valores do coeficiente de determinación $1-VR$ e do erro de predición $SECV$ de 0,76 e ±6,09%, respectivamente, na estimación de DMO. A eliminación de EE da ecuación empeorou lixeiramente a predición, reducindo o valor de $1-VR$ a 0,71 e aumentando o de $SECV$ a ±6,68%. A ecuación cuadrática con CNET como único preditor mostrou unha perda importante de precisión, reducíndose o coeficiente de determinación até 0,45 e aumentando notabelmente o erro de predición a ±9,23%.

Os correspondentes valores de r^2 e de SEP para os tres modelos, aplicados á predición de DMO do conxunto de validación externa foron, respectivamente, de 0,66 e ±8,25%, de 0,62 e ±8,84% e de 0,38 e ±10,1%, mostrando en conxunto un pobre comportamento preditivo cun alto valor do erro de estimación da dixestibilidade. Seguindo a Shenk *et al*. (2001) valores do coeficiente de determinación en validación cruzada ($1-VR$) entre 0,70 e 0,89 mostran un razoábel axuste para o modelo de predición, mentres que Williams (2001) indican que valores de RPD entre 1,5 e 2,0 permiten unha predición cualitativa básica. Atendendo a estes criterios, as dúas primeiras ecuacións terían utilidade para realizar unha predición aproximada cualitativa (valores alto, medio e baixo) da dixestibilidade. Sen embargo, os valores do coeficiente de determinación en validación externa apenas superiores a 0,60, os valores de RPD_{ve} ≤1,5 e o elevado erro de predición, superior a 8 unidades de DMO, indican unha escasa utilidade dos modelos empíricos para a predición da dixestibilidade da planta de xirasol e as súas fraccións.

Táboa 53.- Ecuacións de predición da dixestibilidade da materia orgánica en base a parámetros químicos da colección de mostras de planta enteira de xirasol e os seus compoñentes morfolóxicos, en estado fresco

Ecuación					Calibración		Validación cruzada		Validación externa				
					R^2	SEC	1-VR	SECV	r^2	SEP	SEPc	Bias	Pend
DMO =	29,10	+0,79 CNET	+1,94 PB	-0,23 EE	0,77	5,97	0,76	6,09	0,66	8,25	8,00	-1,956	0,775
s.e.	*±1,44*	*±0,061*	*±0,148*	*±0,047*									
P	***	***	***	***	***		***		***				
DMO =	27,81	+0,89 CNET	+1,59 PB		0,73	6,55	0,71	6,68	0,62	8,84	8,56	-2,168	0,747
s.e.	*±1,55*	*±0,063*	*±0,143*										
P	***	***	***		***		***		***				
DMO =	37,23	+1,53 CNET	-0,0190 $CNET^2$		0,46	9,24	0,45	9,23	0,38	10,15	10,14	-0,360	0,736
s.e.	*±2,24*	*±0,327*	*±0,0093*										
P	***	***	*		***		***		**				

DMO: dixestibilidade da materia orgánica (%); MS: materia seca; CNET: carbohidratos non estruturais (%MS); PB: proteína bruta (%MS); EE: extracto etéreo (%MS); *P:* significación (*** P<0,001; ** P<0,01; * P<0,05; NS non significativo P>0,05); R^2: coeficiente de determinación do modelo de calibración; SEC: erro estándar de calibración; 1-VR: coeficiente de determinación en validación cruzada; SECV: erro estándar de validación cruzada; r^2: coeficiente de determinación en validación externa; SEP: erro estándar de predición; SEPc: erro estándar de predición corrixido por bias; Bias: diferencia media entre os valores observados e os preditos pola ecuación; Pend: pendente da regresión entre valores observados e preditos pola ecuación

4.1.6.2 Ecuacións NIRS para a predición da composición química e DMO

Na Táboa 54 se observan as características descritivas dos parámetros de composición química e dixestibilidade dos grupos de calibración e validación externa da coleccións de mostras de planta enteira de xirasol e as súas fraccións, así como os estatísticos que definen a calidade das ecuacións NIRS. Expresados en %MS, os valores medios (e rango de variación) dos constituíntes químicos foron, respectivamente, MO: 88,9 (76,8 a 97,3) e 88,3 (76,7 a 97,5), PB: 7,3 (1,0 a 19,7) e 8,33 (2,4 a 18,7), FND: 43,1 (21,8 a 80,1) e 42,30 (24,7 a 74,1), FAD: 34,6 (16,7 a 63,7) e 33,8 (19,0 a 62,0), CEL: 28,9 (12,4 a 57,5) e 27,0 (10,5 a 51,4), LAD: 6,2 (2,5 a 14,0) e 7,3 (2,5 a 13,7), EE: 12,3 (0,3 a 57,2) e 7,8 (0,5 a 53,9), CNET: 13,0 (0,7 a 45,0) e 14,9 (1,3 a 38,4) e CSA: 12,2 (0,8 a 43,9) e 14,6 (1,1 a 36,5). Os correspondentes valores de DMO no grupo de calibración foi 51,0% de media, oscilando entre 33,6 e 73,9% e no grupo de validación o valor medio foi de 55,2% e o rango de variación estivo entre 31,8 e 73,9%. O amplo rango para todos os parámetros estudados mantense en ambos grupos e reflicte a elevada diversidade de mostras que conforman ambas coleccións.

Os modelos de predición obtivéronse con SNV+D como pretratamento espectral e segunda derivada para MO, PB, FND, FAD, CEL e DMO e primeira derivada para LAD, EE, CNET e CSA. O número de mostras anómalas eliminadas do conxunto de calibración respecto do número inicial de mostras oscilou entre 0,8 e 4,4% para as calibracións NIRS para estimar os parámetros químicos, sendo do 4,5% para DMO, todos eles claramente por debaixo do valor máximo do 20% recomendado por Shenk e Westerhaus (1995a) no desenvolvemento de ecuacións de calibración NIRS.

Os coeficientes de determinación ($1-VR$) e os erros de predición ($SECV$) no proceso de validación cruzada foron, respectivamente, de 0,89 e ±1,75% para MO, de 0,98 e ±0,48% para PB, de 0,98 e ±1,85% para FND, de 0,87 e ±4,13% para FAD, de 0,86 e ±4,24% para CEL, de 0,55 e ±1,38% para LAD, de 0,99 e ±1,10% para EE, de 0,98 e ±1,25% para CNET, de 0,98 e ±1,30% para CSA e de 0,95 e de ±2,57% para DMO. O ratio $SECV/SEC$ oscilou entre 1,13 e 1,26, dentro do intervalo sinalado por Burns e Ciurczak (1992) como indicativo de calibracións NIRS robustas.

Segundo o criterio definido por Shenk *et al*. (2001) para xulgar a calidade do axuste das ecuacións en función do valor do coeficiente de determinación en validación cruzada, esta foi excelente ($1-VR$ ≥0,90) para a predición do contido en PB, FND, EE, CNET,

CSA e DMO, boa ($1-VR$ entre 0,70 e 0,89) para a predición de MO, FAD e CEL e mediocre ($1-VR$ entre 0,50 e 0,69) para a predición de LAD. Atendendo aos criterios de Williams (2001) e de Williams e Sobering (1996) para xulgar a calidade preditiva das ecuacións en base ao valores de RPD_{vc} e RER_{vc} en validación cruzada, aquela foi boa (RPD_{vc}>3) para PB, FND, EE, CNET e CSA e DMO, permitindo para estas ecuacións unha predición cuantitativa, sendo aceptábel (RPD_{vc} entre 2,5 e 3,0) para MO e FAD, permitindo unha predición cualitativa en rangos, mediocre para CEL (RPD_{vc} entre 2 e 2,5) permitindo unicamente unha clasificación básica de valores (altos, medios e baixos), sendo considerada sen utilidade para a predición (RPD_{vc}<2) a ecuación NIRS para estimar o contido en LAD.

A representación gráfica dos valores de referencia e dos valores preditos cando se aplican os modelos de calibración NIRS sobre un conxunto de mostras independentes se mostra nas Figuras 11a e 11b (parámetros químicos) e na Figura 12 (dixestibilidade da materia orgánica). Os valores do coeficiente de determinación r^2 e do erro de predición SEP foron, respectivamente, de 0,88 e ±2,12% para MO, de 0,95 e ±1,04% para PB, de 0,97 e ±2,35% para FND, de 0,88 e ±3,69% para FAD, de 0,90 e ±3,53% para CEL, de 0,4 e ±1,89% para LAD, de 0,99 e ±1,06% para EE, de 0,99 e ±1,30% para CNET, de 0,97 e 1,77% para CSA e de 0,94 e ±3,23% para DMO. Atendendo aos criterios de Williams (2014) a calidade preditiva dos modelos de calibración en validación externa foi boa para as ecuacións de predición dos contidos de PB, FND, CEL, EE, CNET, CSA e DMO, permitindo realizar predicións cuantitativas con alta fiabilidade sobre mostras independentes (RPD_{ve}>3) e aceptábel para MO e FAD (RPD_{ve} entre 2,5 e 3,0), permitindo predicións de rangos de calidade das mostras, mentres que a ecuación para a predición de LAD carecía de utilidade (RPD_{ve}<1,5).

A validez das ecuacións para xulgar acerca da súa robustez e fiabilidade en análises de rutina sobre mostras externa indican un comportamento irregular das ecuacións obtidas. Aparte da confirmada non utilidade da ecuación para a predición de LAD, os modelos máis robustos se obtiveron para a estimación de FAD, CEL, EE, CNET e CSA, para os que se cumpriron os criterios de r^2 ≥0,60, de $bias$ =±0,60 SEC, de SEP_c ≤1,30 SEC e de valor da pendente entre 0,9 e 1,1 indicados por Shenk *et al*. (2001) e de Shenk e Westerhaus (1991b), mentres que para o resto das ecuacións o valor de SEP_c excedeu o citado valor umbral, indicando a existencia de variabilidade no conxunto de mostras

externas que non está perfectamente recollida no conxunto de calibración, o que suxire a necesidade de ampliar a colección de mostras de calibración.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Táboa 54.- Estatísticos de calibración e validación cruzada das ecuacións NIRS para estimación da composición química e da dixestibilidade da materia orgánica de mostras de planta enteira de xirasol e as súas fraccións, en estado fresco

Parámetro	Scatter	Tratamento matemático	Calibración										Validación cruzada			
			n	Outliers	T	Media	SD	Min	Max	Rango	R^2	SEC	1-VR	SECV	RPDvc	RERvc
MO	2,5,5,1	SNV + D	112	3	9	88,9	4,9	76,8	97,3	20,5	0,93	1,39	0,89	1,75	2,8	11,7
PB	2,10,5,1	SNV + D	112	3	8	7,3	4,0	1,0	19,7	18,7	0,99	0,38	0,98	0,48	8,3	39,3
FND	2,6,4,1	SNV + D	112	2	8	43,1	15,0	21,8	80,1	58,3	0,99	1,55	0,98	1,85	8,1	31,5
FAD	2,10,5,1	SNV + D	112	1	8	34,6	10,4	16,7	63,7	47,0	0,89	3,40	0,87	4,13	2,5	11,4
CEL	2,6,4,1	SNV + D	112	3	9	28,9	10,3	12,4	57,5	45,1	0,87	3,74	0,86	4,24	2,4	10,6
LAD	1,4,4,1	SNV + D	112	3	5	6,2	2,3	2,5	14,0	11,5	0,63	1,23	0,55	1,38	1,6	8,3
EE	1,10,10,1	SNV + D	110	5	9	12,3	14,5	0,3	57,2	56,9	1,00	0,96	0,99	1,10	13,2	51,7
CNET	1,4,4,1	SNV + D	112	5	9	13,0	10,0	0,7	45,0	44,3	0,99	1,10	0,98	1,25	8,0	35,6
CSA	1,4,4,1	SNV + D	112	5	8	12,2	9,8	0,8	43,9	43,1	0,99	1,10	0,98	1,30	7,5	33,0
DMO	2,10,5,1	SNV + D	87	4	8	51,0	12,4	33,6	73,9	40,3	0,97	2,19	0,95	2,57	4,8	15,6

Parámetro	Validación externa														
	n	Media	SD	Min	Max	Rango	r^2	SEP	SEPc	Bias	Pend	RPDve	RERve	GH	NH
MO	35	88,3	5,89	76,7	97,5	20,7	0,88	2,12	2,12	-0,318	0,934	2,78	9,78	1,35	0,31
PB	35	8,33	4,79	2,42	18,7	16,2	0,95	1,04	1,05	0,122	1,039	4,62	15,7	1,35	0,31
FND	35	42,3	13,4	24,7	74,1	49,3	0,97	2,35	2,38	0,081	0,959	5,74	21,0	1,35	0,31
FAD	35	33,7	10,3	18,9	61,9	42,9	0,88	3,69	3,74	0,098	0,933	2,81	11,6	1,35	0,31
CEL	35	26,9	11,1	10,5	51,4	40,9	0,90	3,53	3,54	0,505	0,965	3,15	11,6	1,35	0,31
LAD	35	7,27	2,37	2,52	13,6	11,1	0,40	1,89	1,85	0,503	0,893	1,25	5,89	1,35	0,31
EE	35	7,83	14,0	0,51	53,9	53,4	0,99	1,06	1,05	0,241	1,017	13,2	50,4	1,35	0,31
CNET	35	14,8	10,0	1,32	38,3	37,0	0,99	1,30	1,25	-0,410	1,022	7,74	28,4	1,35	0,31
CSA	35	14,6	9,57	1,07	36,4	35,4	0,97	1,77	1,79	-0,143	0,982	5,41	20,0	1,35	0,31
DMO	25	55,2	13,2	31,7	73,9	42,1	0,94	3,23	3,25	-0,560	1,002	4,12	13,0	1,13	0,25

SNV+D: standard normal variate+detrend; n: número de observacións; Outliers: número de mostras anómalas eliminadas; T: número de factores da regresión; SD: desviación estándar; Min: valor mínimo; Max: valor máximo; SEC: erro estándar de calibración; R^2: coeficiente de determinación do modelo de calibración; SEC: erro estándar de calibración; 1-VR: coeficiente de determinación en validación cruzada; SECV: erro estándar de validación cruzada; RPDvc: ratio entre a desviación estándar e o erro de predición en validación cruzada; RERvc: ratio entre rango de valores e o erro de predición en validación cruzada; r^2: coeficiente de determinación en validación externa; SEP: erro estándar de predición; SEPc: erro estándar de predición corrixido por bias; Bias: diferencia media entre os valores observados e os preditos pola ecuación; Pend: pendente da regresión; RPDve: ratio entre a desviación estándar e o erro de predición en validación externa; RERve: ratio entre rango de valores e o erro de predición en validación externa; GH e NH: distancias de Mahalanobis; MS: materia seca; MO: materia orgánica (%MS); PB: proteína bruta (%MS); FND: fibra neutro deterxente (%MS); FAD: fibra ácido deterxente (%MS); CEL: celulosa (%MS); LAD: lignina ácido deterxente (%MS); EE: extracto etéreo (%MS); CNET: carbohidratos non estruturais (%MS); CSA: carbohidratos solúbeis en auga (%MS); DMO: dixestibilidade da materia orgánica (%)

Figura 11a.- Plot de valores de composición química medidos polos métodos de referencia e de valores preditos polas ecuacións NIRS para mostras de planta enteira de xirasol e as súas fraccións, en estado fresco

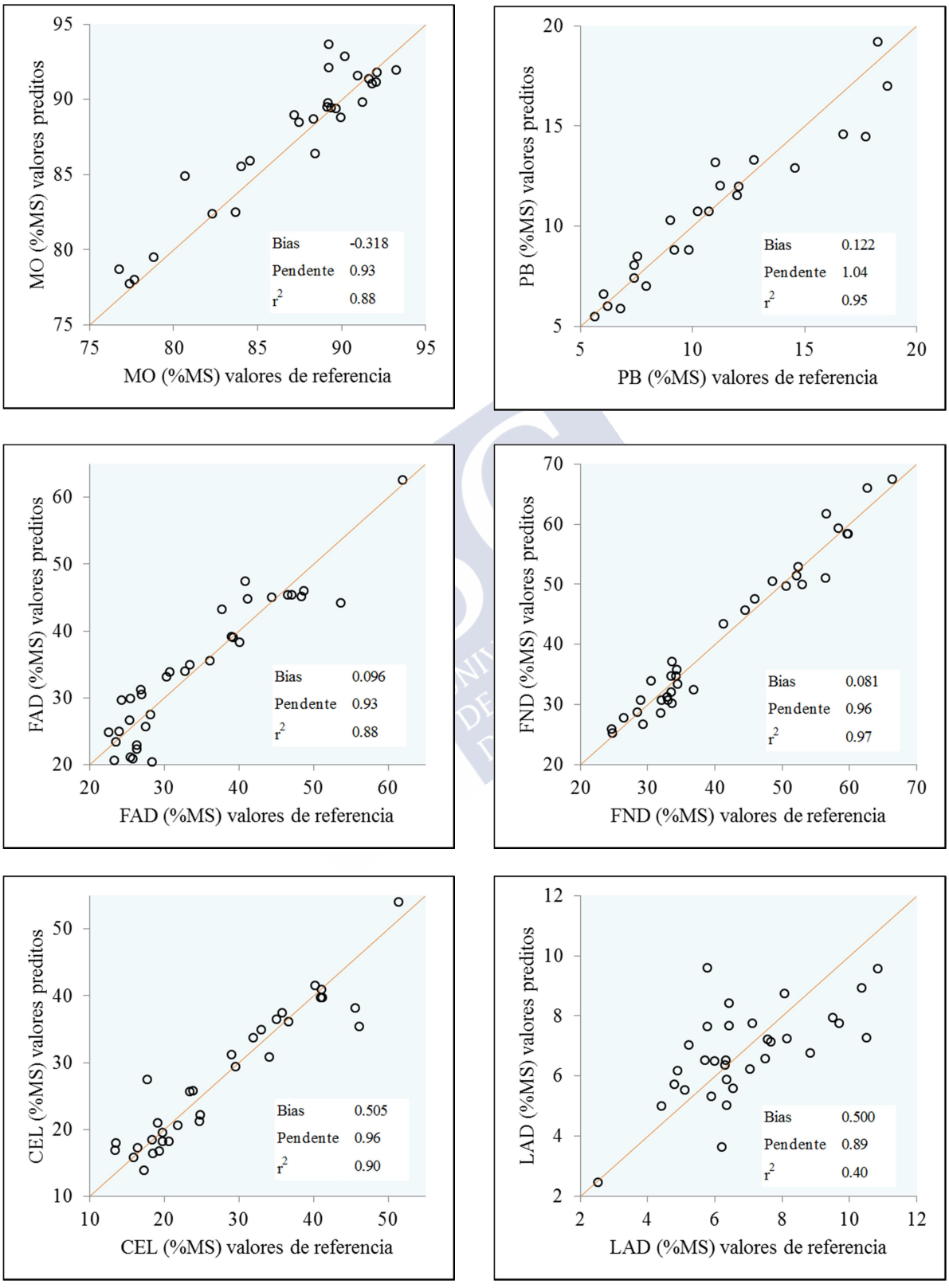
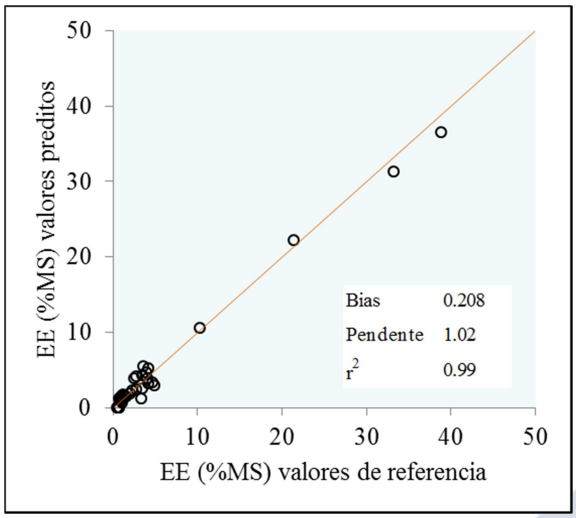
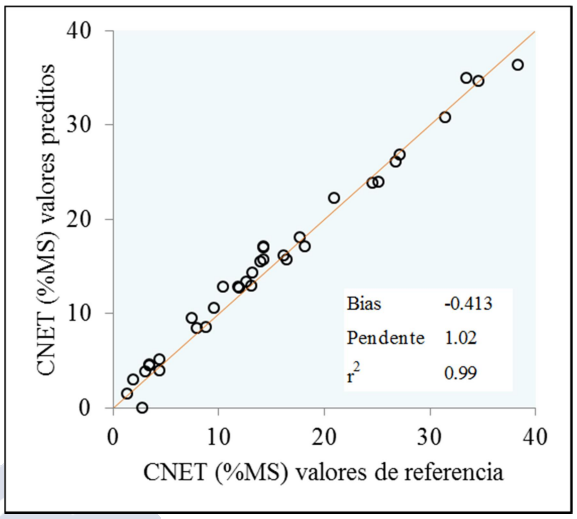


Figura 11b.- Plot de valores de composición química medidos polos métodos de referencia e de valores preditos polas ecuacións NIRS para mostras de planta enteira de xirasol e as súas fraccións en estado fresco (Continuación)





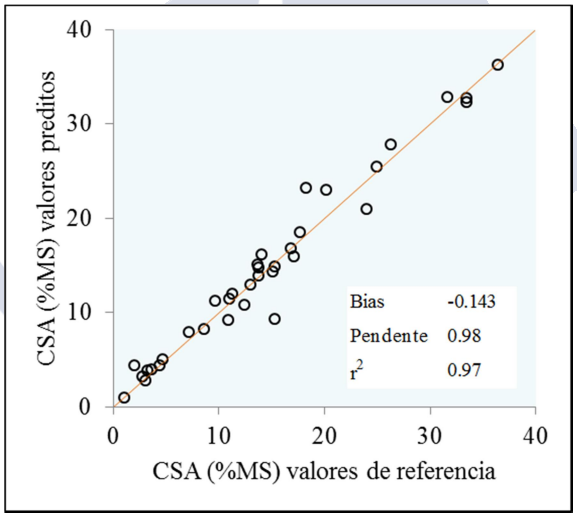
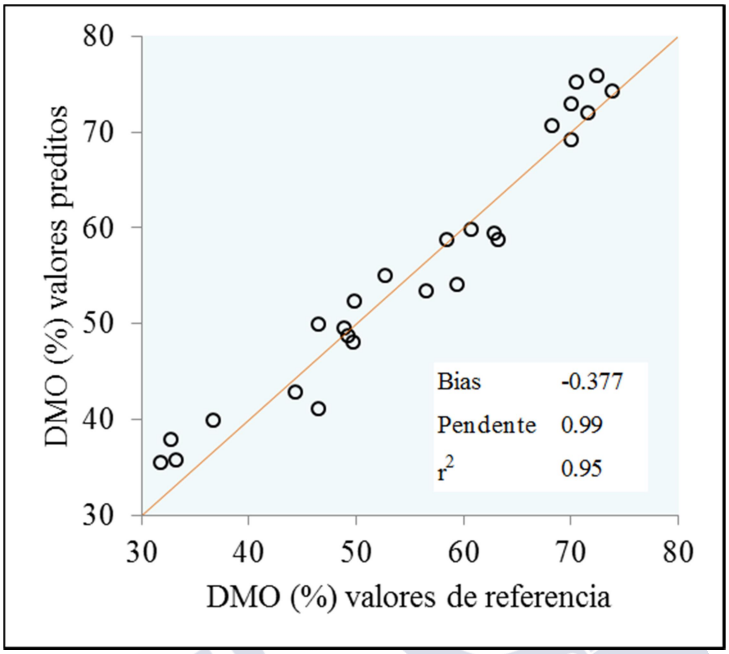


Figura 12.- Plot de valores de dixestibilidade da materia orgánica medidos polo método de referencia e de valores preditos polas ecuacións NIRS para mostras de planta enteira de xirasol e as súas fraccións, en estado fresco



4.2 Modelos preditivos para determinar o valor nutricional de forraxes ensiladas

4.2.1 Modelo xeral para forraxes ensiladas

4.2.1.1 Ecuacións empíricas para a predición de DMO

Valores medios da colección

Na Táboa 55 se resumen os valores medios, desviación estándar, coeficiente de variación e rango da composición química (MO, PB, FND e FAD) e dixestibilidade (DMO) da colección de mostras que se utilizaron no presente traballo para a construción de modelos universais de predición da DMO de ensilaxes a partir da súa composición química. O total de mostras utilizadas ascendeu a 385, das que 256 correspondían a ensilaxes de herba e 129 a ensilaxes de millo.

Os valores medios (e rango de variación) da composición química, en %MS, foron MO: 91,1 (68,3 a 97,8), PB: 10,6 (3,9 a 26,6), FND: 50,9 (30,2 a 74,4) e FAD: 33,4 (14,4 a 51,8), indicando unha ampla variabilidade destes parámetros na colección. O valor medio de DMO foi 67,3%, oscilando o seu rango de 45,2 a 81,1%. A maior variabilidade correspondeu ao contido en PB (CV=39,6%) seguido dos contidos de FAD e FND (CV=16,4 e 22,6%, respectivamente), sendo a concentración de MO o parámetro menos variábel (CV=5,0%), mentres que o valor de DMO (CV= 9,5%) mostrou unha variabilidade intermedia entre estas últimas.

Comparado coa colección de mostras de forraxes frescas referido no apartado 4.11, a colección de ensilaxes mostrou valores máis baixos de MO, PB e DMO e máis elevados de FND e FAD, reproducindo as diferenzas habituais entre as forraxes frescas e as súas ensilaxes.

Táboa 55.- Composición química e dixestibilidade da materia orgánica da colección total de mostras de forraxes ensiladas utilizadas na construción de ecuacións empíricas

Parámetro	n	Media	SD	CV	Max	Min
MO	385	91,1	4,5	5,0	97,8	68,3
PB	385	10,6	4,2	39,6	26,6	3,9
FND	385	50,9	8,3	16,4	74,4	30,2
FAD	385	33,4	7,6	22,6	51,8	14,4
DMO	385	67,3	6,4	9,5	81,1	45,2

MS: materia seca; MO: materia orgánica (%MS); PB: proteína bruta (%MS); FND: fibra neutro deterxente (%MS); FAD: fibra ácido deterxente (%MS); DMO: dixestibilidade da materia orgánica (%); n: número de mostras; SD: desviación estándar; CV: coeficiente de variación; Max: valor máximo; Min: valor mínimo

Correlacións entre composición química e dixestibilidade

As correlacións entre DMO e os parámetros de composición química para o conxunto de mostras de forraxes ensiladas foron de baixa intensidade, aínda que estatisticamente significativas (p<0,001) para as fraccións da fibra e o contido en proteína, mentres que para o contido en MO a correlación foi próxima a cero. Como se indica na Táboa 56, da mesma forma que acontecera para o conxunto de mostras de forraxes frescas, o parámetro de composición química que mostrou unha maior correlación co valor de DMO da colección de forraxes frescas foi o contido en FND, seguido do contido en FAD, ambas de signo negativo e cun valor do coeficiente de correlación r de -0,50 e -0,44 inferior ao observado para as forraxes frescas. Da mesma forma, a concentración de PB mostrou unha baixa correlación positiva (r=0,23) coa dixestibilidade, inferior en valor absoluto ao mostrado cos valores de fibra.

Táboa 56.- Matriz de correlacións entre parámetros de composición química e dixestibilidade da materia orgánica da colección de forraxes ensiladas utilizadas para a construción de ecuacións empíricas

		Forraxes ensiladas n=385			
		PB	**FND**	**FAD**	**DMO**
MO	r	-0,65	-0,20	-0,63	-0,03
	p	***	***	***	NS
PB	r	-	0,05	0,35	0,23
	p		NS	***	***
FND	r	-	-	0,77	-0,50
	p			***	***
FAD	r	-	-	-	-0,44
	p				***

MS: materia seca; MO: materia orgánica (%MS); PB: proteína bruta (%MS); FND: fibra neutro deterxente (%MS); FAD: fibra ácido deterxente (%MS); DMO: dixestibilidade da materia orgánica (%); r: coeficiente de correlación de Pearson; p: significación (*** p<0,001; ** p<0,01; * p<0,05; NS p>0,05: non significativo)

Ecuacións de predición de DMO baseadas en parámetros químicos

Os mellores modelos universais baseados en parámetros químicos para a predición da dixestibilidade da materia orgánica do conxunto de mostras de forraxes frescas, ordenados pola porcentaxe de varianza explicada en calibración (R^2) en orde decrecente, se mostran na Táboa 57 e os correspondentes estatísticos de calibración e validación cruzada e externa se mostran na Táboa 58. A mellor ecuación, que integraba os contidos de MO, PB e FAD nun modelo cuadrático conseguiu explicar un 41% da varianza en validación cruzada cun erro de predición ($SECV$) de ±4,92%, reducíndose a porcentaxe da varianza explicada ao 37% e aumentando o erro de predición (SEP) a ±4,99% cando o modelo se aplicaba a un conxunto de mostras

independentes. A segunda ecuación seleccionada, que utilizaba FAD e PB como preditores, integrados tamén nun modelo cuadrático, mostrou coeficientes de determinación en validación cruzada e externa de 0,37 e 0,37 e erros de predición $SECV$ e SEP de ±5,05 e ±5,21%, respectivamente. Os valores dos coeficientes de determinación foron de 0,24 e 0,22 para $1 - VR$ e r^2 e os erros de predición $SECV$ e SEP foron de ±5,65 e ±5,81%, respectivamente. Os valores do estatístico RPD_{vc} en validación cruzada oscilaron entre 1,30 e 1,13 e en validación externa entre 1,28 e 1,10, correspondendo os valores máis altos ao primeiro modelo seleccionado.

Ningunha das ecuacións baseadas en parámetros químicos conseguiu acadar o umbral mínimo indicado por Shenk *et al.* (2001) relativo ao valor do coeficiente de determinación en validación cruzada ($1 - VR$ >0,50) nin o indicado por Williams (2001) para o valor de RPD, que debe ser superior a 1,50 para que os modelos teñan algunha utilidade preditiva. Neste sentido o valor da pendente entre os valores de referencia e os preditos pola segunda e da terceira ecuación en validación externa para a segunda e terceira ecuacións (0,77 e 0,76, respectivamente) están fóra do rango indicado por Shenk *et al.* (2001) como aceptábel (0,9 a 1,1), co cal a aplicación destas ecuacións a mostras independentes sobreestimarían os valores baixos de DMO e subestimarían os valores altos. Por outra banda os erros de predición de tódolos modelos, tanto en validación cruzada como externa exceden o valor de 2 veces o erro estándar do método de referencia (1,94% para DMO *in vitro* e 2,33% para DMO *in vivo* no presente traballo), límite indicado por Windham *et al*. (1989) e Marten *et al*. (1989) para que unha ecuación sexa útil con propósitos preditivos.

Táboa 57.- Ecuacións baseadas en parámetros químicos para a predición da dixestibilidade da materia orgánica do total de mostras de forraxes ensiladas

Modelo	Ecuación						
EN1	DMO =		119,43	-0,43 MO	+1,55 PB	-0,69 FAD	-0,0443 PB^2
		s.e.	*9,34*	*±0,854*	*±0,330*	*±0,043*	*±0,0123*
		P	***	***	***	***	***
EN2	DMO =		72,34	-0,58 FAD	+2,01 PB	-0,0533 PB^2	
		s.e.	*±1,60*	*±0,039*	*±0,327*	*±0,0126*	
		P	***	***	***	***	
EN3	DMO =		86,77	-0,38 FND			
		s.e.	*±1,67*	*±0,032*			
		P	***	***			

DMO: dixestibilidade da materia orgánica (%); MS: materia seca; MO: materia orgánica (%MS); PB: proteína bruta (%MS); FAD: fibra ácido deterxente (%MS); FND: fibra neutro deterxente (%MS); s.e.: erro estándar do coeficiente; *P:* significación (*** $P<0,001$; ** $P<0,01$; * $P<0,05$; NS non significativo $P>0,05$)

Táboa 58.- Estatísticos de calibración e validación das ecuacións baseadas en parámetros químicos para a predición da dixestibilidade da materia orgánica do total de mostras de forraxes ensiladas

Modelo	Calibración		Validación cruzada		Validación externa					
	R^2	SEC	1-VR	SECV	Grupo de validación	r^2	SEP	SEPc	Bias	Pend
EN1	0,42	4,88	0,41	4,92	Mostras ensiladas	0,37	4,99	4,98	0,106	0,921
P	***		***			***				
EN2	0,38	5,02	0,37	5,05	Mostras ensiladas	0,32	5,21	5,19	0,436	0,771
P	***		***			***				
EN2	0,25	5,54	0,24	5,65	Mostras ensiladas	0,22	5,81	5,84	0,347	0,760
P	***		***			***				

R^2: coeficiente de determinación do modelo de calibración; SEC: erro estándar de calibración; 1-VR: coeficiente de determinación en validación cruzada; SECV: erro estándar de validación cruzada; r^2: coeficiente de determinación en validación externa; SEP: erro estándar de predición; SEPc: erro estándar de predición corrixido por bias; Bias: diferencia media entre os valores observados e os preditos pola ecuación; Pend: pendente da regresión entre valores observados e preditos pola ecuación; *P:* significación (*** $P<0,001$; ** $P<0,01$; * $P<0,05$; NS non significativo $P>0,05$)

4.2.1.2 Ecuacións NIRS para a predición da composición química e DMO

Na Táboa 59 se mostran os valores de composición química e dixestibilidade da totalidade da colección de mostras ensilaxes de herba e de millo que se utilizaron para o desenvolvemento dos modelos NIRS, así como os estatísticos de calibración e validación cruzada e externa das ecuacións de predición. Expresados en %MS, os valores medios (e rango de variación) dos constituíntes químicos foron, respectivamente, MO: 88,8 (72,7 a 98,1) e 88,8 (68,3 a 97,4), PB: 11,5 (3,9 a 26,6) e 11,7 (5,5 a 24,5), FND: 52,4 (27,6 a 75,6) e 51,2 (30,2 a 70,3), FAD: 36,1 (16,0 a 56,6) e 35,4 (15,4 a 54,4), CEL: 26,4 (14,0 a 39,6) e 25,9 (18,4 a 38,6), e ALM: 25,4 (0,0 a 49,0) e 29,4 (9,3 a 46,0). O valor medio de DMO no grupo de calibración foi de 67,8 % (rango de 48,6 a 80,2%) e no grupo de validación independente foi de 67,4% (rango de 48,7 a 81,1%). En ambos grupos mantense unha elevada variabilidade para tódolos parámetros, reflectindo a diversidade de xenotipos, ciclos, estados de madurez, tratamentos post-colleita e condicións ambientais das mostras que conforman a colección de mostras de forraxes ensiladas.

Os modelos de predición obtivéronse con SNV+D como pretratamento espectral para corrixir o efecto da dispersión da luz, sendo optimizados polo uso da segunda derivada do espectro para a estimación de FND, FAD, CEL e ALM e polo da primeira derivada para MO, PB e DMO. O número de *outliers* eliminadas do conxunto de calibración respecto do número inicial de mostras oscilou entre 2,2 e 7,1% nas calibracións NIRS para estimación de parámetros químicos, sendo do 3,0% na construción do modelo preditivo para DMO.

Os coeficientes de determinación ($1-VR$) e os erros de predición ($SECV$) no proceso de validación cruzada foron, respectivamente, de 0,95 e ±1,19% para MO, de 0,94 e ±0,89% para PB, de 0,89 e ±2,76% para FND, de 0,94 e ±1,88% para FAD, de 0,71 e ±2,47% para CEL, de 0,93 e ±2,38% para ALM e de 0,75 e de 2,93% para DMO. O ratio $SECV/SEC$ oscilou entre 1,03 e 1,19 o que o sitúa dentro do intervalo entre 0,5 e 1,5 sinalado por Burns e Ciurczak (1992) como indicativo de calibracións NIRS robustas.

Segundo o criterio definido por Shenk *et al*. (2001) para xulgar a calidade do axuste das ecuacións en función do valor do coeficiente de determinación en validación cruzada, esta foi excelente ($1-VR$ ≥0,90) para a predición de MO, PB, FAD e ALM e boa ($1-VR$ entre 0,70 e 0,89) para aos demais parámetros. Atendendo aos criterios de Williams (2014) para xulgar a calidade preditiva das ecuacións en base ao valores de RPD_{vc} en validación cruzada, aquela foi boa (RPD_{vc}>3) para a estimación de MO, PB, FND, FAD, e ALM, sendo mediocre (RPD_{vc}

entre 2,0 e 2,5) para CEL e DMO, o que permitiría unha predición cualitativa básica en valores altos, medios e baixos.

A distribución dos valores de referencia e dos valores preditos cando se aplicaron os distintos modelos de calibración NIRS sobre o conxunto de mostras independentes se mostra nas Figuras 13 (parámetros químicos) e na Figura 14 (dixestibilidade da materia orgánica). Os valores do coeficiente de determinación r^2 e do erro de predición SEP foron, respectivamente, de 0,79 e ±2,39 para MO, de 0,74 e ±2,46% para PB, de 0,73 e ±4,56% para FND, de 0,84 e ±3,19% para FAD, de 0,28 e ±4,65% para CEL, de 0,82 e 3,33% para ALM e de 0,34 e ±5,77% para DMO.

Atendendo aos criterios de Williams (2014) e de Williams e Sobering (1996) para xulgar a calidade preditiva dos modelos de calibración en base ao valores de RPD_{ve} en validación externa se categorizaron como mediocres (RPD_{ve} entre 2 e 2,5) as ecuacións para estimar MO, FAD e ALM, permitindo realizar unha clasificación básica de valores (altos, medios e baixos) para estes parámetros. As ecuacións NIRS para a estimación dos restantes parámetros mostraron un pobre comportamento preditivo aplicados a mostras independentes, con valores de RPD_{ve} por debaixo do límite de 2,0 indicado por Williams (2014) como límite para que unha ecuación teña utilidade preditiva, sendo de 1,9 para FND, de 1,6 para PB, de 1,1 para DMO e de 1,0 para CEL. Incluso aplicando un criterio máis conservativo, como o de Saeys *et al*. (2005) que considera aceptábel o axuste para ecuacións con valores de RPD_{ve} >1,5, a predición NIRS dos valores de DMO do conxunto de ensilaxes carecería de utilidade preditiva cando se aplica a mostras independentes.

Táboa 59.- Estatísticos de calibración e validación cruzada das ecuacións NIRS para estimación da composición química e da dixestibilidade da materia orgánica da colección de mostras de forraxes ensiladas

Parámetro	Scatter	Tratamento matemático	Calibración										Validación cruzada			
			n	Outliers	T	Media	SD	Min	Max	Rango	R^2	SEC	1-VR	SECV	RPDvc	RERvc
MO	SNV+D	1,4,4,1	825	24	14	88,8	5,1	72,7	98,1	25,4	0,95	1,11	0,95	1,19	4,3	21,4
PB	SNV+D	1,4,4,1	829	20	14	11,5	3,9	3,9	26,6	22,7	0,95	0,84	0,94	0,89	4,4	25,4
FND	SNV+D	2,10,5,1	810	18	11	52,4	8,2	27,6	75,3	47,7	0,90	2,62	0,89	2,76	3,0	17,3
FAD	SNV+D	2,10,5,1	821	19	8	36,1	7,4	16,0	56,6	40,6	0,94	1,83	0,94	1,88	3,9	21,5
CEL	SNV+D	2,8,4,1	211	15	5	26,4	4,9	14,0	39,6	25,6	0,78	2,14	0,71	2,47	2,0	10,4
DMO	SNV+D	1,10,5,1	292	9	10	67,8	6,0	48,6	80,2	31,6	0,82	2,54	0,75	2,93	2,0	10,8

Parámetro	Validación externa														
	n	Media	SD	Min	Max	Rango	r^2	SEP	SEPc	Bias	Pend.	RPDve	RERve	GH	NH
MO	198	88,8	5,4	68,3	97,4	29,0	0,80	2,39	2,96	-0,10	0,94	2,2	12,1	1,02	0,43
PB	198	11,7	4,0	5,5	24,5	19,0	0,74	2,46	2,46	-0,26	0,83	1,6	7,7	1,02	0,43
FND	198	51,2	8,5	30,2	70,3	40,1	0,73	4,56	4,55	-0,52	0,89	1,9	8,8	1,02	0,43
FAD	198	35,4	7,8	15,4	54,4	39,0	0,84	3,19	3,18	-0,34	0,98	2,5	12,3	1,02	0,43
CEL	64	25,9	4,7	18,4	38,6	20,2	0,28	4,65	4,63	-0,70	0,51	1,0	4,3	1,06	0,41
DMO	87	67,4	6,4	48,7	81,1	32,4	0,34	5,77	5,80	-0,51	0,67	1,1	5,6	1,00	0,40

SNV+D: standard normal variate+detrend; n: número de observacións; Outliers: número de mostras anómalas eliminadas; T: número de factores da regresión; SD: desviación estándar; Min: valor mínimo; Max: valor máximo; SEC: erro estándar de calibración; R^2: coeficiente de determinación do modelo de calibración; SEC: erro estándar de calibración; 1-VR: coeficiente de determinación en validación cruzada; SECV: erro estándar de validación cruzada; RPDvc: ratio entre a desviación estándar e o erro de predición en validación cruzada; RERvc: ratio entre rango de valores e o erro de predición en validación cruzada; r^2: coeficiente de determinación en validación externa; SEP: erro estándar de predición; SEPc: erro estándar de predición corrixido por bias; Bias: diferencia media entre os valores observados e os preditos pola ecuación; Pend: pendente da regresión; RPDve: ratio entre a desviación estándar e o erro de predición en validación externa; RERve: ratio entre rango de valores e o erro de predición en validación externa; GH e NH: distancias de Mahalanobis; MS: materia seca; MO: materia orgánica (%MS); PB: proteína bruta (%MS); FND: fibra neutro deterxente (%MS); FAD: fibra ácido deterxente (%MS); CEL: celulosa (%MS); DMO: dixestibilidade da materia orgánica (%)

.

Figura 13.- Plot de valores de composición química medidos polos métodos de referencia e de valores preditos polas ecuacións NIRS para a colección de mostras de forraxes ensiladas

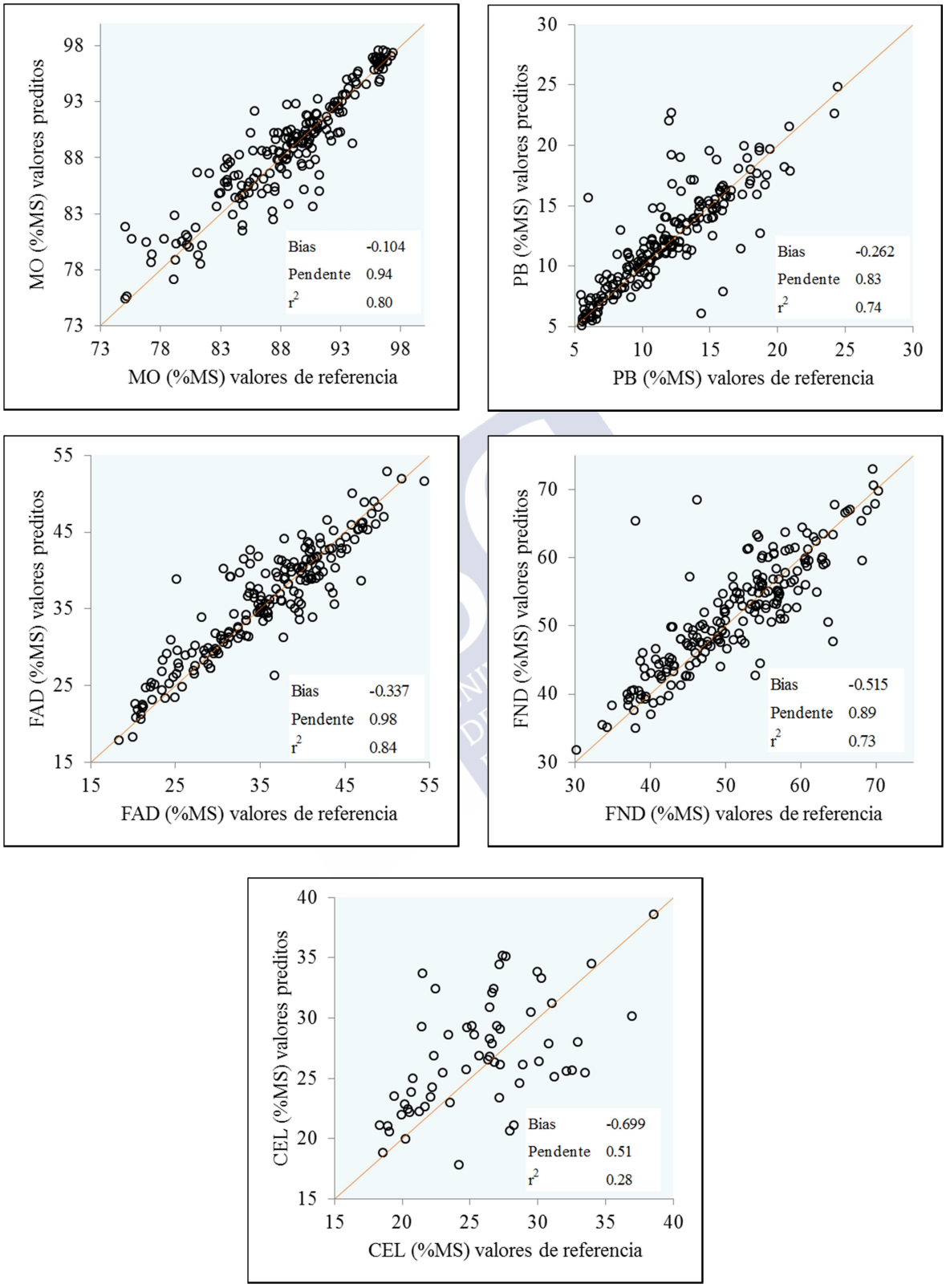
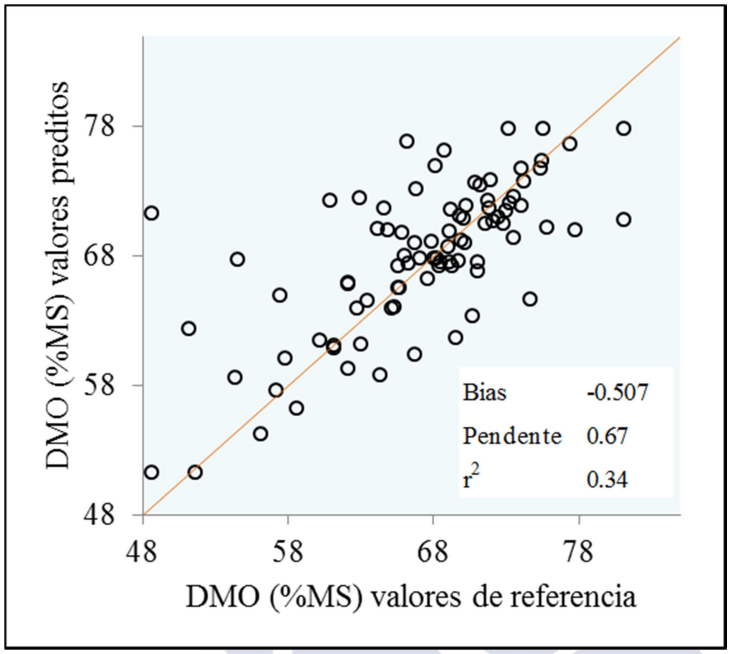


Figura 14.- Plot de valores de dixestibilidade da materia orgánica medida polo método de referencia e de valores preditos polas ecuacións NIRS para a colección de mostras de forraxes ensiladas



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

4.2.2 Ensilaxes de herba

4.2.2.1 Ecuacións empíricas para a predición de DMO

Valores medios da colección

As características da colección en canto aos valores medios e variabilidade dos parámetros de composición química e dixestibilidade da materia orgánica da colección de mostras de ensilaxes de herba utilizadas para desenvolver ecuacións empíricas de predición de DMO se mostran na Táboa 60. Os contidos medios (e rango de variación), foron (en % MS), MO: 88,7 (68,3 a 94,8), PB: 12,8 (5,3 a 26,6), FND: 53,9 (34,3 a 74,4), FAD: 37,3 (22,9 a 51,8), HCEL: 16,6 (1,2 a 29,6), CEL: 28,4 (14,0 a 40,2), FB: 29,1 (3,0 a 43,2) e LAD: 6,1 (2,0 a 14,5). O valor medio de DMO foi 66,9%, oscilando os valores mínimo e máximo entre 49,6 a 81,1%.

Táboa 60.- Composición química e dixestibilidade da colección de mostras de ensilaxes de herba

Parámetro	n	Media	SD	CV	Max	Min
MO	256	88,7	3,5	4,0	94,8	68,3
PB	256	12,8	3,7	29,1	26,6	5,3
FND	256	53,9	7,4	13,7	74,4	34,3
FAD	256	37,3	5,1	13,5	51,8	22,9
HCEL	256	16,6	6,3	38,0	29,6	1,2
CEL	227	28,4	4,6	16,2	40,2	14,0
FB	225	29,1	4,4	15,1	43,2	3,0
LAD	227	6,1	2,3	38,1	14,5	2,0
DMO	256	66,9	7,1	10,6	81,1	48,6

MS: materia seca; MO: materia orgánica (%MS); PB: proteína bruta (%MS); FND: fibra neutro deterxente (%MS); FAD: fibra ácido deterxente (%MS); HCEL: hemicelulosa (%MS); CEL: celulosa (%MS); FB: fibra bruta (%MS); LAD: lignina ácido deterxente (%MS); DMO: dixestibilidade da MO (%); n: número de mostras; SD: desviación estándar; CV: coeficiente de variación; Max: valor máximo; Min: valor mínimo

Dun total de 256 mostras de dixestibilidade coñecida, un 85% correspondían a ensilaxes de pastos plurianuais e o 15% restante a ensilaxes de cultivos de inverno, incluídas mostras de ensilaxes de triticale, de chícharo e das súas mesturas, o cal incrementou a variabilidade da colección. Os contidos en LAD e HCEL foron os parámetros de maior variabilidade (CV de 38,1 e 38,0%, respectivamente), seguido do contido en PB (CV de 29,1%), mentres que a concentración de materia orgánica foi o parámetro menos variábel (CV de 4,0%), sendo intermedia a das restantes fraccións da fibra, con valores do coeficiente de variación entre 16,2% e 13,5% para CEL, FB, FND e FAD. A variabilidade da DMO se situou nun nível inferior respecto da observada para os

constituíntes químicos, cun valor do CV de 10,6%, coa salvedade indicada para o contido en materia orgánica.

Correlacións entre composición química e dixestibilidade

Como se indica na Táboa 61, foi observada unha moderada pero significativa correlación (p<0,001) negativa entre os valores de dixestibilidade e o contido nas distintas fraccións da fibra, con valores do coeficiente de correlación r de -0,54 para FND e de -0,51 para FAD e FB, sendo máis baixo en valor absoluto para CEL (r=-0,41) e sobre todo para LAD (r=-0,34) e HCEL (r=-0,22). A correlación de DMO co contido en PB foi tamén de moderada intensidade e de signo positivo (r= 0,50; p<0,001). Este parámetro mostrou tamén unha significativa correlación negativa cos parámetros relacionados coa fibra, máis alto en valor absoluto para FND (r= -0,63; p<0,001), reflectindo o incremento da concentración de paredes celulares e a diminución co contido en PB coa maduración das plantas, sobre todo nos primeiros ciclos de crecemento.

Táboa 61.- Matriz de correlacións entre parámetros de composición química e dixestibilidade da materia orgánica da colección de mostras de ensilaxes de herba

		PB	FND	FAD	HCEL	CEL	CEL	LAD	DMO
MO	r	-0,33	0,48	-0,18	0,71	0,37	0,27	-0,20	-0,25
	p	***	***	**	***	***	***	**	***
PB	r	-	-0,63	-0,44	-0,39	-0,44	-0,34	-0,12	0,50
	p		***	***	***	***	***	NS	***
FND	r	-	-	0,54	0,74	0,63	0,59	0,14	-0,54
	p			***	***	***	***	*	***
FAD	r	-	-	-	-0,16	0,61	0,53	0,37	-0,51
	p				**	***	***	***	***
HCEL	r	-	-	-	-	0,23	0,24	-0,13	-0,22
	p					***	***	*	***
CEL	r	-	-	-	-	-	0,68	-0,32	-0,41
	p						***	***	***
FB	r	-	-	-	-	-	-	0,03	-0,51
	p							NS	***
LAD	r	-	-	-	-	-	-	-	-0,34
	p								***

MS: materia seca; MO: materia orgánica (%MS); PB: proteína bruta (%MS); FND: fibra neutro deterxente (%MS); FAD: fibra ácido deterxente (%MS); HCEL: hemicelulosa (%MS); CEL: celulosa (%MS); FB: fibra bruta (%MS); LAD: lignina ácido deterxente (%MS); DMO: dixestibilidade da MO (%); r: coeficiente de correlación de Pearson; p: significación (*** p<0,001; ** p<0,01; * p<0,05; NS p>0,05: non significativo)

Ecuacións de predición de DMO baseadas en parámetros químicos

A Táboa 62 mostra as ecuacións de regresión seleccionadas e os correspondentes estatísticos de calibración e validación, clasificadas en orde decrecente de varianza explicada polo modelo no proceso de calibración (R^2). Os dous mellores modelos multivariábeis con maior varianza explicada no proceso de validación, incluían as concentracións de PB e LAD ademais de FND ou FAD cun termo cuadrático para o contido en PB. Estes modelos mostraron en validación cruzada valores do coeficiente de determinación ($1-VR$) e do erro de predición $SECV$ de 0,58 e 0,54 e de ±4,36 e ±4,70% na estimación de DMO. A eliminación de LAD dos modelos empeorou substancialmente a exactitude e precisión da ecuación, reducindo o valor de $1-VR$ a 0,39 e 0,36 e aumentando o de $SECV$ a ±5,72 e ±5,88%. Os modelos con FND e FAD como únicos preditores mostraron valores de $1-VR$ lixeiramente por debaixo de 0,30 e erros de predición por riba de ±6,0%.

Os correspondentes valores de r^2 e de SEP para os dous primeiros modelos, aplicados á predición de DMO do conxunto de validación externa foron, respectivamente, de 0,50 e ±4,65% e de 0,47 e ±4,74%, mentres que para os dous seguintes o valor de r^2 descendía até 0,30 e 0,22 e o de SEP se incrementaba até ±6,18% e ± 6,88% mostrando en conxunto un pobre comportamento preditivo. Por último, os dous modelos univariábeis con FAD ou FND mostraron en validación externa valores moi baixos de r^2 e altos de SEP (0,21 e 0,14 e ±6,62 e ±7,26%, respectivamente). Seguindo a Shenk *et al*. (2001) valores do coeficiente de determinación en validación cruzada ($1-VR$) entre 0,50 e 0,70 mostrarían un axuste mediocre para o modelo de calibración, mentres que valores por baixo de 0,50 indicarían un mal axuste da ecuación, sen utilidade na predición. Por outra banda, Williams (2001) indica un valor mínimo do estatístico RPD de entre 1,5 e 2,0 para permitir unha predición cualitativa básica. Atendendo a estes criterios, unicamente os dous primeiros modelos superarían os citados valores mínimos e terían utilidade para realizar unha predición aproximada cualitativa (valores alto, medio e baixo) da dixestibilidade, atendendo aos estatísticos de validación cruzada. En validación externa, sen embargo, os valores do coeficiente de determinación r^2 e de RPD_{ve} son inferiores, respectivamente, a 0,50 e 1,50 para todas as ecuacións salvo para a primeira, mostrando un escaso axuste cando se aplican a un conxunto de mostras independentes e indicando en todo caso unha escasa utilidade dos modelos empíricos

para a su aplicación en rutina na predición da dixestibilidade de ensilaxes de herba e cultivos de inverno.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Táboa 62.- Ecuacións de predición da dixestibilidade da materia orgánica en base a parámetros químicos da colección de mostras de ensilaxes de herba e cultivos de inverno

Ecuación						Calibración		Validación cruzada		Validación externa				
						R^2	SEC	1-VR	SECV	r^2	SEP	SEPc	Bias	Pend
DMO =	69,01	+2,68 PB	-0,37 FND	-0,58 LAD	-0,067 PB^2	0,60	4,30	0,58	4,36	0,50	4,65	4,60	0,68	0,904
s.e.	*±6,22*	*±0,59*	*±0,060*	*±0,133*	*±0,0192*									
P	***	***	***	***	***	***		***		***				
DMO =	51,70	+3,34 PB	-0,28 FAD	-0,40 LAD	-0,079 PB^2	0,55	4,57	0,54	4,70	0,47	4,74	4,72	0,427	0,905
s.e.	*±5,57*	*±0,59*	*±0,084*	*±0,152*	*±0,020*									
P	***	***	***	**	***	***		***		***				
DMO =	71,22	+2,35 PB	-0,62 FAD	-0,063 PB^2		0,39	5,72	0,37	5,78	0,30	6,18	6,17	-0,031	0,732
s.e.	*±4,81*	*±0,49*	*±0,0,81*	*±0,017*										
P	***	***	***	***		***		***		***				
DMO =	115,42	-2,29 PB	-1,04 FND	+0,055 PB x FND		0,36	5,88	0,34	5,91	0,22	6,88	6,83	-0,812	0,762
s.e.	*±8,94*	*±0,603*	*±0,160*	*±0,0117*										
P	***	***	***	***		***		***		**				
DMO =	96,63	-0,80 FAD				0,29	6,16	0,28	6,18	0,21	6,62	6,61	-0,210	0,658
s.e.	*±2,93*	*±0,077*												
P	***	***				***		***		**				
DMO=	94,78	-0,52 FND				0,27	6,26	0,26	6,28	0,14	7,26	7,20	-0,921	0,679
s.e.	*±2,91*	*±0,053*												
P	***	***				***		***		***				

DMO: dixestibilidade *in vivo* da materia orgánica (%); MS: materia seca; PB: proteína bruta (%MS); FND: fibra neutro deterxente (%MS); FAD: fibra ácido deterxente (%MS); LAD: lignina ácido deterxente (%MS); s.e.: erro estándar do coeficiente*; P:* significación (*** P<0,001; ** P<0,01; * P<0,05; NS non significativo P>0,05); R^2: coeficiente de determinación do modelo de calibración; SEC: erro estándar de calibración; 1-VR: coeficiente de determinación en validación cruzada; SECV: erro estándar de validación cruzada; r^2: coeficiente de determinación en validación externa; SEP: erro estándar de predición; SEPc: erro estándar de predición corrixido por bias; Bias: diferencia media entre os valores observados e os preditos pola ecuación; Pend: pendente da regresión entre valores observados e preditos pola ecuación

4.2.2.2 Ecuacións NIRS para a predición da composición química e DMO

As características descritivas (media, desviación estándar e rango) dos parámetros de composición química e DMO das colección de calibración e validación externa utilizadas no desenvolvemento dos modelos de predición NIRS se mostran na Táboa 63. Os valores medios da composición química (e rango de variación), expresados sobre %MS, do colectivo de calibración e validación externa foron, respectivamente, MO: 87,2 (72,7 a 95,3) e 87,2 (68,3 a 94,4), PB: 12,6 (4,6 a 26,6) e 12,7 (5,5 a 24,5), FND: 54,0 (27,6 a 78,3) e 53,1 (34,3 a 71,8), FAD: 38,5 (21,7 a 56,6) e 37,9 (23,4 a 54,4), FB: 28,8 (18,6 a 41,1) e 28,9 (19,2 a 36,7), CEL: 27,8 (14,0 a 39,6) e 27,8 (20,4 a 38,6) e LAD: 6,4 (2,3 a 14,5) e 6,1 (2,0 a 13,1). Os valores medios de DMO foron de 67,1% (rango de 48,6 a 80,2%) no grupo de calibración e de 66,1% (rango de 48,7 a 81,1%) no de validación externa. A colección de mostras de ensilaxes de herba presenta unha elevada variabilidade para todos os parámetros, indicando a alta heteroxeneidade de mostras que conforman este produto.

Os modelos de predición obtidos a partir da segunda derivada do espectro permitiron obter estimacións máis precisas e exactas para todos os parámetros, excepto para a ecuación de predición do contido en celulosa na que se conseguiu mellor resultado co tratamento matemático de primeira derivada. Os pretratamentos espectrais utilizados na obtención das ecuacións NIRS foron en todos os casos do tipo SNV+D, excepto para o modelo de predición da DMO que se aplicou o W-MSC.

Respecto ao número inicial de mostras que constitúen a poboación de calibración, o número de mostras eliminadas como anómalas oscilou entre 2,8 e 5,2% para os modelos de predición dos diferentes constituíntes químicos, sendo de 5,6% para o correspondente a DMO.

A Táboa 64 mostra os estatísticos calibración e validación cruzada das ecuacións NIRS obtidas para a estimación da composición química e da dixestibilidade da materia orgánica de mostras de ensilaxe de herba. As ecuacións de predición mostraron unha calidade excelente para estimar o contido en PB, FND e FAD, con valores do coeficiente de determinación, erro de predición e RPD_{vc} no proceso de validación cruzada de 0,92, 0,91 e 0,92 para $1 - VR$, de ±1,01, ±2,32 e ±1,58 para $SECV$ e de 3,5, 3,4 e 3,6 para RPD_{vc}, respectivamente. Nesta fase, a categorización das ecuacións para a estimación do valor de DMO e as concentracións de MO, FB e CEL foi de boa a

aceptábel, con valores respectivos de 0,89, 0,85, 0,77 e 0,77 para $1 - VR$, de 2,70, 1,63, 1,89 e 2,25 para $SECV$ e de 2,6, 2,6, 2,1 e 2,1 para RPD. No caso da ecuación de estimación do contido en lignina, o valor do coeficiente de determinación en validación cruzada ($1 - VR$=0,47) foi inferior ao límite de 0,50 indicado por Shenk *et al*. (2001) para que un modelo de predición se poida considerar válido con propósitos preditivos. Os valores da relación entre $SECV$ e SEC oscilaron entre 0,65 e 1,02, situados dentro do intervalo recomendado por Burns e Ciurczak (1992), indicativo da robustez das ecuacións de calibración NIRS.

No proceso de validación dos modelos de calibración sobre o conxunto de mostras independentes, os valores do coeficiente de determinación r^2, do erro de predición SEP e do estatístico RPD_{ve} foron, respectivamente, de 0,86, ±1,81% e 2,6 para MO, de 0,91, ±1,07% e 3,3 para PB, de 0,91, ±2,37% e 3,3 para FND, de 0,94, ±1,55% e 3,9 para FAD, de 0,57, ±2,92% e 1,3 para FB, de 0,77, ±2,34% e 1,7 para CEL, de 0,53, ±1,71% e 1,2 para LAD e de 0,89, ±2,83% e 2,6 para DMO.

Windham *et al*. (1989) indican que os valores de SEP non deberían superar ao dobre do erro do método de referencia do parámetro a predicir, sendo cumprida esta condición para as ecuacións NIRS que estiman o contido en PB, FND, FAD, LAD e o valor de DMO, mentres que no caso dos modelos de predición de MO, FB e CEL os valores de SEP superan o límite recomendado.

Atendendo aos criterios de Williams (2014) para xulgar a calidade preditiva das ecuacións en base aos valores de RPD_{ve} e RER_{ve} en validación externa, aquela foi boa (RPD_{ve}>3) para PB, FND e FAD, permitindo para estas ecuacións unha predición cuantitativa, sendo aceptábel (RPD_{ve} entre 2,5 e 3,0) para MO, e sendo consideradas sen utilidade para seren utilizadas con propósitos preditivos (RPD_{ve}<2) a ecuación NIRS para estimar o contido en CEL, FB e LAD. A ecuación para a predición de DMO se categoriza como aceptábel para realizar unha predición cualitativa en rangos atendendo ao seu valor de RPD_{ve}, situado entre 2,5 e 3,0. Sen embargo, Williams e Sobering (1996) indican que no caso das ecuacións de predición de parámetros biolóxicos con valores de RPD_{ve} próximos a 3, cando o estatístico RER_{ve} é superior a 10 pode considerarse que a ecuación pode ser útil para a predición cuantitativa, o cal é o caso da ecuación NIRS para a predición de DMO no conxunto de mostras de forraxes de ensilaxes de herba, que acadou un valor de RER_{ve} de 11,5 en validación externa.

A representación gráfica dos resultados obtidos na etapa de validación externa para os parámetros químicos e dixestibilidade da materia orgánica das ecuacións de calibración de ensilaxes de herba se mostra nas Figuras 15a e 15b e na Figura 16. Os valores da pendente da regresión entre os valores de referencia e os valores preditos polas ecuacións NIRS para a estimación dos diferentes parámetros estivo entre 1,0 e 0,90 para MO, PB, FND, FAD e DMO, estando próxima ao valor inferior do intervalo recomendado no caso da ecuación para a predición de FB (0,89). Os valores da pendente correspondentes a CEL (0,71) e LAD (0,65), claramente por debaixo dos anteriores, indican a subestimación dos valores baixos e a sobreestimación dos valores altos na aplicación dos modelos de predición o cal confirma a escasa utilidade con propósitos preditivos cando se aplican sobre un conxunto de mostras externas observado para estes parámetros.

A aplicación dos criterios de Shenk *et al*. (2001) e Shenk e Westerhaus (1991b) para xulgar acerca da robustez e fiabilidade das ecuacións NIRS en análises de rutina sobre mostras externas, confirmaron a utilidade dos modelos de predición de MO, PB, FND, FAD e DMO, para os que se cumpriron os criterios dos autores citados (r^2 ≥0,60; $bias$ =±0,60 SEC; SEP_c ≤1,30 SEC e pendente entre 0,9 e 1,1), mentres que para CEL, FB e LAD o comportamento dos modelos de predición non foron satisfactorios. O comparativamente menor tamaño da colección de mostras de ensilaxes con valores coñecidos para estes tres últimos parámetros, coa correspondente parte de variabilidade existente na colección de mostras de validación externa non representada no conxunto de calibración pode explicar parcialmente a falta de axuste dos modelos NIRS para estimar CEL, FB e LAD de ensilaxes de herba obtidos no presente traballo.

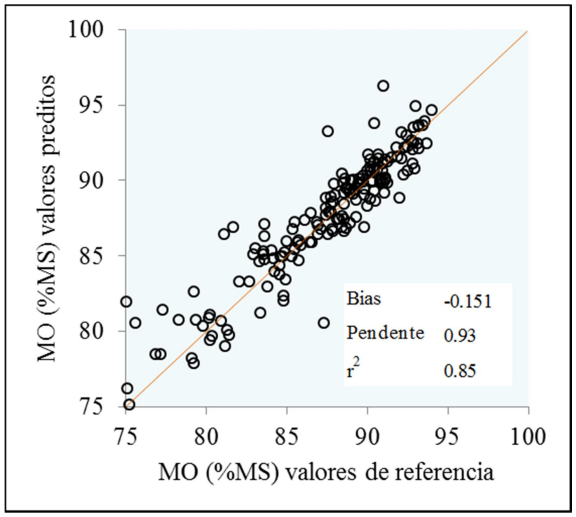
Táboa 63.- Estatísticos de calibración e validación cruzada das ecuacións NIRS para estimación da composición química e da dixestibilidade da materia orgánica de mostras de ensilaxes de herba

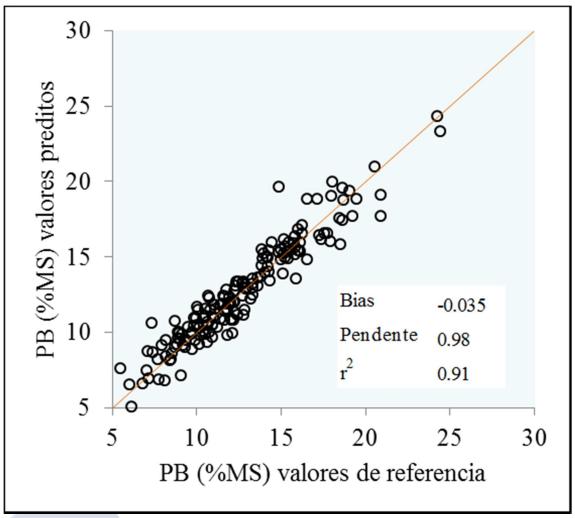
Parámetro	Scatter	Tratamento matemático	Calibración									Validación cruzada			
			n	Outliers	T	Media	SD	Min	Max	Rango	R^2	SEC	1-VR	SECV	RPDvc	RERvc
MO	SNV+D	2,5,5,1	674	24	7	87,2	4,2	72,7	95,3	22,6	0,91	1,36	0,85	1,63	2,6	13,9
PB	SNV+D	2,6,4,1	674	19	12	12,6	3,5	4,6	26,6	22,1	0,93	0,91	0,92	1,01	3,5	21,9
FND	SNV+D	2,5,5,1	674	26	8	54,0	7,8	27,6	78,3	50,7	0,94	1,95	0,91	2,32	3,4	21,8
FAD	SNV+D	2,5,5,1	674	27	9	38,5	5,7	21,7	56,6	34,9	0,96	1,23	0,93	1,58	3,6	22,1
FB	SNV+D	2,4,4,1	150	6	8	28,8	3,9	18,6	41,1	22,5	0,83	1,60	0,77	1,89	2,1	11,9
CEL	SNV+D	1,5,5,1	151	8	5	27,8	4,7	14,0	39,6	25,6	0,82	1,92	0,77	2,25	2,1	11,4
LAD	SNV+D	2,5,5,1	151	7	4	6,4	2,5	2,3	14,5	12,2	0,52	1,49	0,47	1,74	1,4	7,0
DMO	W-MSC	2,4,4,1	196	11	9	67,1	7,0	48,6	80,2	31,6	0,92	2,17	0,89	2,70	2,6	11,7

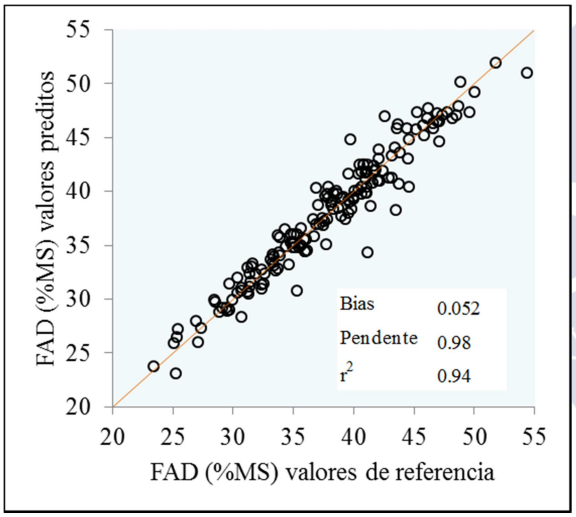
Parámetro	Validación externa														
	n	Media	SD	Min	Max	Rango	r^2	SEP	SEPc	Bias	Pend.	RPDve	RERve	GH	NH
MO	167	87,2	4,7	68,3	94,0	25,7	0,86	1,81	1,80	-0,15	0,93	2,6	14,2	0.93	0.43
PB	167	12,7	3,6	5,5	24,5	19,0	0,91	1,07	1,08	-0,04	0,99	3,3	17,7	0.93	0.43
FND	167	53,1	7,9	34,3	71,8	37,4	0,91	2,37	2,38	0,15	1,00	3,3	15,8	0.93	0.43
FAD	167	37,9	6,1	23,4	54,4	31,0	0,94	1,55	1,55	0,05	0,98	3,9	20,0	0.93	0.43
FB	45	28,9	3,7	19,2	36,7	17,5	0,57	2,92	2,92	0,46	0,89	1,3	6,0	0.85	0.36
CEL	46	27,8	3,9	20,4	38,6	18,1	0,77	2,34	2,37	-0,11	0,71	1,7	7,7	0.85	0.36
LAD	46	6,1	2,1	2,0	13,1	11,1	0,53	1,71	1,72	0,19	0,65	1,2	6,5	0.85	0.36
DMO	60	66,1	7,4	48,7	81,1	32,4	0,89	2,83	2,84	0,31	0,90	2,6	11,5	0.85	0.37

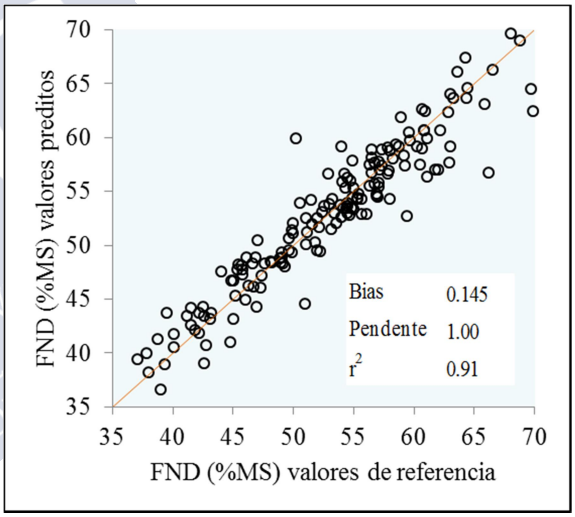
W-MSC: multiplicative scatter correction; SNV+D: standard normal variate+detrend; n: número de observacións; Outliers: número de mostras anómalas eliminadas; T: número de factores da regresión; SD: desviación estándar; Min: valor mínimo; Max: valor máximo; SEC: erro estándar de calibración; R^2: coeficiente de determinación do modelo de calibración; SEC: erro estándar de calibración; 1-VR: coeficiente de determinación en validación cruzada; SECV: erro estándar de validación cruzada; RPDvc: ratio entre a desviación estándar e o erro de predición en validación cruzada; RERvc: ratio entre rango de valores e o erro de predición en validación cruzada; r^2: coeficiente de determinación en validación externa; SEP: erro estándar de predición; SEPc: erro estándar de predición corrixido por bias; Bias: diferencia media entre os valores observados e os preditos pola ecuación; Pend: pendente da regresión; RPDve: ratio entre a desviación estándar e o erro de predición en validación externa; RERve: ratio entre rango de valores e o erro de predición en validación externa; GH e NH: distancias de Mahalanobis; MS: materia seca; MO: materia orgánica (%MS); PB: proteína bruta (%MS); FND: fibra neutro deterxente (%MS); FAD: fibra ácido deterxente (%MS); FB: fibra bruta; CEL: celulosa (%MS); LAD: lignina ácido deterxente (%MS); DMO: dixestibilidade da materia orgánica (%)

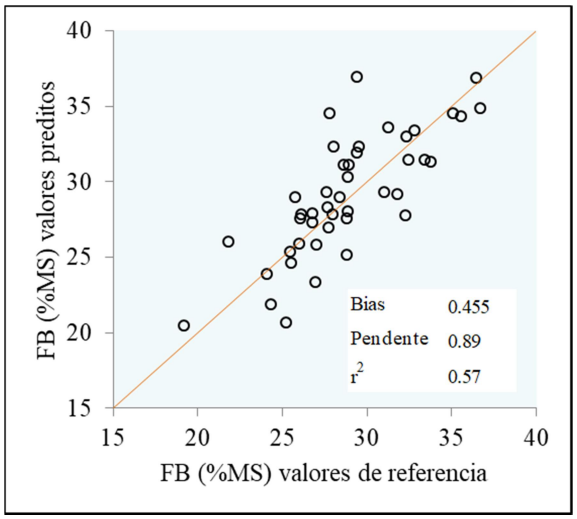
Figura 15a.- Plot de valores de composición química medidos polos métodos de referencia e de valores preditos polas ecuacións NIRS para mostras de ensilaxes de herba











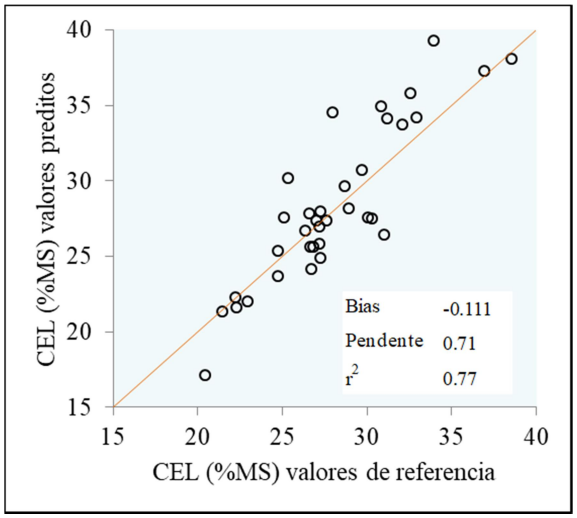


Figura 15b.- Plot de valores de composición química medidos polos métodos de referencia e de valores preditos polas ecuacións NIRS para mostras de ensilaxes de herba (Continuación)

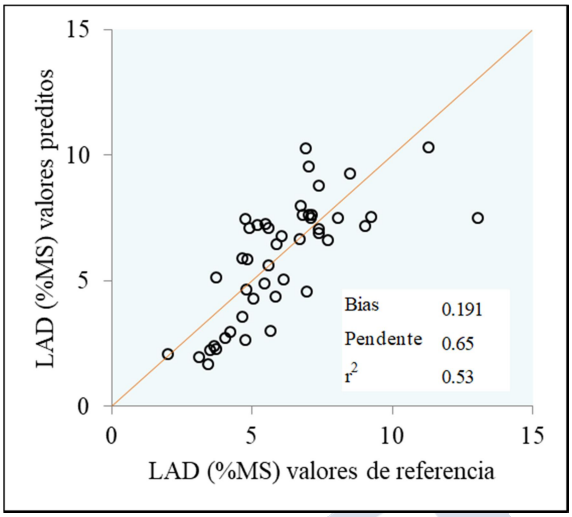
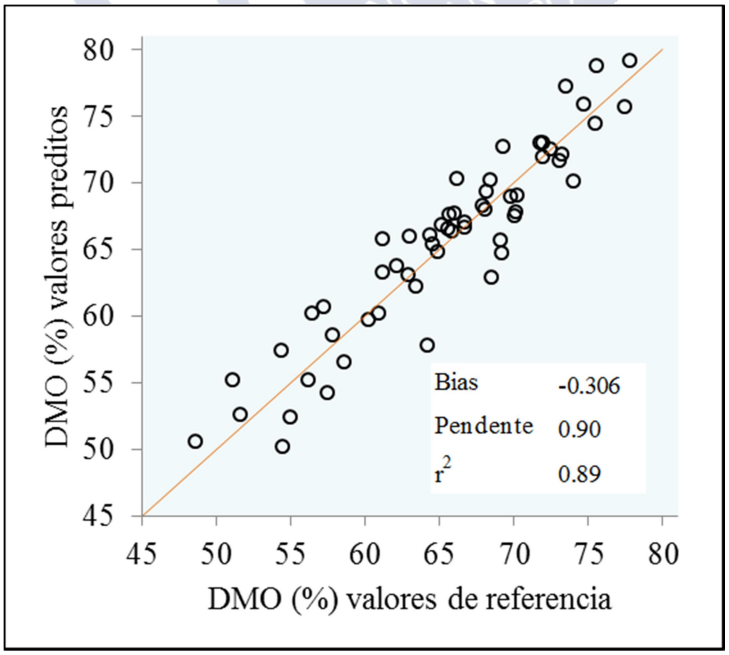


Figura 16.- Plot de valores de dixestibilidade da materia orgánica medidos polo método de referencia e de valores preditos polas ecuacións NIRS para mostras de ensilaxes de herba



4.2.3 Ensilaxes de planta enteira de millo

4.2.3.1 Ecuacións empíricas para a predición de DMO

Valores medios da colección

Na Táboa 64 se mostra a media, a desviación estándar, o coeficiente de variación e rango de valores para a composición química e dixestibilidade do colección de mostras de planta de millo enteira en estado fresco que foron usadas para construír e validar as ecuacións empíricas para a predición de DMO a partir de constituíntes químicos. Os valores medios (e rango de variación) da colección, expresados en porcentaxe sobre %MS foron, respectivamente, MO: 96,0 (91,8 a 91,5), PB: 6,7 (3,9 a 10,0), FND: 44,0 (30,2 a 64,7), FAD: 24,8 (14,4 a 36,7), CEL: 20,2 (8,6 a 33,7), HCEL: 19,2 (14,7 a 29,2), LAD: 2,2 (1,0 a 3,5), FB: 22,2 (13,7 a 33,1) e ALM: 27,5 (0,0 a 47,1). O valor medio de DMO foi de 68,8%, con rango entre 59,1 a 76,8%.

Táboa 64.- Composición química e dixestibilidade da materia orgánica da colección de mostras de ensilaxes de planta enteira de millo

Parámetro	n	Media	SD	CV	Max	Min
MO	129	96,0	1,06	1,11	97,8	91,5
PB	129	6,72	1,10	16,4	10,0	3,91
FND	129	44,0	5,92	13,5	64,7	30,2
FAD	129	24,8	3,97	16,0	36,7	14,4
CEL	129	20,2	4,95	24,5	33,7	8,6
HCEL	129	19,2	2,78	14,5	29,2	14,7
LAD	129	2,21	0,48	21,4	3,52	1,03
FB	129	22,2	3,59	16,2	33,1	13,7
ALM	129	27,5	8,40	30,5	47,1	0,0
DMO	129	68,8	3,39	4,9	76,8	59,1

MS: materia seca; MO: materia orgánica (%MS); PB: proteína bruta (%MS); FND: fibra neutro deterxente (%MS); FAD: fibra ácido deterxente (%MS); CEL: celulosa (%MS); HCEL: hemicelulosa (%MS); LAD: lignina ácido deterxente; FB: fibra bruta (%MS); ALM: amidón (%MS); DMO: dixestibilidade da materia orgánica (%); n: número de mostras; SD: desviación estándar; CV: coeficiente de variación; Max: valor máximo; Min: valor mínimo

A poboación de mostras de ensilaxe de planta enteira de millo mostra unha elevada heteroxeneidade, sobre todo en canto ao contido en amidón, reflectindo distintos momentos de madurez das mostras, desde o estado vexetativo até as proximidades da madurez fisiolóxica das plantas. Ordenados de maior a menor variabilidade, o parámetro con maior coeficiente de variación foi ALM (30,5%), seguido de CEL (24,5%) e LAD (21,4%) e de PB, FB, FAD e FND, que mostraron valores de CV entre 13 e 16%, mentres que a concentración de MO foi moi pouco variábel (1,1%). Os

valores medios da colección de ensilaxes de millo foron comparábeis cos da colección de mostras de planta enteira de millo en estado fresco, se ben o rango de variación da DMO das mostras de ensilaxes foi lixeiramente inferior, mostrando un valor do coeficiente de variación (4,9%), sinaladamente máis baixo que o observado para o resto das coleccións dos distintos tipos de forraxes utilizadas no presente traballo.

Correlacións entre composición química e dixestibilidade

Na Táboa 65 se mostra a matriz de correlacións entre os parámetros de composición química e a dixestibilidade da materia orgánica da colección de mostras de ensilaxes de planta enteira de millo. Foi observada a existencia dunha moderada, aínda que significativa (p<0,001) correlación negativa entre DMO e as diferentes fraccións da parede celular, e unha baixa correlación positiva (p<0,05) entre DMO e os contidos en proteína e amidón.

Táboa 65.- Matriz de correlacións entre parámetros de composición química e dixestibilidade da materia orgánica da colección de mostras de ensilaxes de planta enteira de millo

		PB	FND	FAD	CEL	HCEL	LAD	FB	ALM	DMO
MO	r	-0,09	0,00	-0,07	0,02	0,11	-0,03	-0,09	0,00	-0,09
	p	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
PB	r	-	0,38	0,34	0,29	0,33	0,21	0,40	-0,58	0,17
	p		***	***	***	***	*	***	***	*
FND	r	-	-	0,92	0,64	0,82	0,64	0,71	-0,86	-0,39
	p			***	***	***	***	***	***	***
FAD	r	-	-	-	0,78	0,52	0,77	0,83	-0,80	-0,45
	p				***	***	***	***	***	***
CEL	r	-	-	-	-	0,24	0,56	0,74	-0,69	-0,30
	p					**	***	***	***	***
HCEL	r	-	-	-	-	-	0,27	0,32	-0,68	-0,19
	p						**	***	***	*
LAD	r	-	-	-	-	-	-	0,68	-0,50	-0,57
	p							***	***	***
FB	r	-	-	-	-	-	-	-	-0,77	-0,44
	p								***	***
ALM	r	-	-	-	-	-	-	-	-	0,20
	p									*

MS: materia seca; MO: materia orgánica (%MS); PB: proteína bruta (%MS); FND: fibra neutro deterxente (%MS); FAD: fibra ácido deterxente (%MS); CEL: celulosa (%MS); HCEL: hemicelulosa (%MS); LAD: lignina ácido deterxente; FB: fibra bruta (%MS); ALM: amidón (%MS); DMO: dixestibilidade da materia orgánica (%); r: coeficiente de correlación de Pearson; p: significación (*** p<0,001; ** p<0,01; * p<0,05; NS p>0,05: non significativo)

Os valores do coeficiente de correlación r entre a DMO e os diferentes constituíntes químicos, ordenados polo seu valor absoluto, foron de -0,57 para LAD, de -0,45 para FAD, de -0,44 para FB, de -0,39 para FND, de -0,30 para CEL, de 0,20 para ALM e de

0,17 para PB. A correlación entre DMO e o contido en MO foi practicamente nula (-0,09) e non acadou significación estatística (p>0,05). Tomando o contido en ALM como un indicador do estado de madurez da planta, se destaca a ausencia de correlación entre este constituínte e o valor de MO (r=0,00; p>0,05) así como as correlacións negativas cos contidos en proteína e as fraccións da fibra, con valores de r de -0,58 para PB, de -0,86 para FND, de -0,80 para FAD e de -0,77 para FB todas elas altamente significativas (p<0,001) ilustrando o incremento en carbohidratos non estruturais e un descenso do contido en proteína, en paredes celulares e lignocelulosa entre as proximidades da floración e da madurez fisiolóxica da planta.

Ecuacións de predición de DMO baseadas en parámetros químicos

Na Táboa 66 se mostran as ecuacións de predición da dixestibilidade da materia orgánica da colección de mostras de ensilaxes de planta enteira de millo construídas con preditores químicos, que foron seleccionadas en base ao valor do seu coeficiente de determinación en calibración (R^2). A mellor ecuación de predición, baseada en LAD, PB e FB, permitiu explicar en validación cruzada unha porcentaxe do 41% da varianza da DMO, cun erro estándar de predición $SECV$ de ±2,58%. A eliminación de FB do modelo, deixando LAD e PB como preditores na ecuación, reduciu lixeiramente a porcentaxe de varianza explicada ($1-VR$=0,40) e incrementou tamén lixeiramente o erro de predición ($SECV$= ±2,59). As ecuacións univariábeis baseadas en LAD e en FAD mostraron en validación cruzada, respectivamente, valores de $1-VR$ de 0,33 e 0,20 e de $SECV$ de ±2,78 e ±3,04%, mentres que a ecuación univariábel baseada en FND mostrou unha porcentaxe de varianza explicada en calibración inferior ao 20%.

A aplicación dos modelos seleccionados ao conxunto de validación externa mostrou un pobre axuste na estimación de DMO, con valores de r^2 inferiores a 0,30 para tódalas ecuacións, erros de predición (SEP) entre ±2,97 e ±3,64%, valores de RPD_{ve} entre 1,6 e 1,4; de RER_{ve} entre 6,7 e 5,0 e coeficientes da pendente entre os valores de referencia e os preditos polas ecuacións entre 0,75 e 0,83. Se ben os valores de SEP están por debaixo do valor umbral recomendado de 2 veces o erro estándar do método de referencia (±2,33% para DMO *in vivo* e ±1,94% para DMO *in vitro*), o resto dos valores están lonxe dos límites mínimos que permiten o uso das ecuacións en rutina para a predición fiábel da DMO de mostras independentes.

Táboa 66.- Ecuacións de predición da dixestibilidade da materia orgánica en base a parámetros químicos da colección de mostras de ensilaxes de planta enteira de millo

Ecuación					Calibración		Validación cruzada		Validación externa				
					R^2	SEC	1-VR	SECV	r^2	SEP	SEPc	Bias	Pend
DMO =	74,06	- 3,34 LAD	+1,17 PB	-0,25 FB	0,45	2,52	0,41	2,58	0,27	2,97	2,95	-0,331	0,796
s.e.	*±1,63*	*±0,617*	*±0,217*	*±0,088*									
P	***	***	***	**	***		***		**				
DMO =	72,55	-4,50 LAD	+0,96 PB		0,42	2,59	0,40	2,61	0,28	2,94	2,92	-0,363	0,839
s.e.	*±1,58*	*±0,476*	*±0,209*										
P	***	***	***		***		***		**				
DMO =	77,91	-4,04 LAD			0,33	2,78	0,32	2,79	0,21	3,07	3,06	-0,022	0,795
s.e.	*±1,14*	*±0,499*											
P	***	***			***		***		*				
DMO =	78,33	-0,383 FAD			0,20	3,04	0,18	3,07	0,12	3,64	3,63	0,192	0,756
s.e.	*±1,66*	*±0,066*											
P	***	***			***		***		*NS*				
DMO =	78,69	-0,224 FND			0,15	3,13	0,13	3,15	0,07	3,24	3,23	-0,234	0,809
s.e.	*±2,02*	*±0,045*											
P	***	***			***		***		*NS*				

DMO: dixestibilidade da materia orgánica (%); MS: materia seca; LAD: lignina ácido deterxente (%MS); PB: proteína bruta (%MS); FB: fibra bruta (%MS); FAD: fibra ácido deterxente (%MS); FND: fibra neutro deterxente (%MS); *s.e:* erro estándar; *P:* significación (*** P<0,001; ** P<0,01; * P<0,05; NS non significativo P>0,05); R^2: coeficiente de determinación do modelo de calibración; SEC: erro estándar de calibración; 1-VR: coeficiente de determinación en validación cruzada; SECV: erro estándar de validación cruzada; r^2: coeficiente de determinación en validación externa; SEP: erro estándar de predición; SEPc: erro estándar de predición corrixido por bias; Bias: diferencia media entre os valores observados e os preditos pola ecuación; Pend: pendente da regresión entre valores observados e preditos pola ecuación

4.2.3.2 Ecuacións empíricas para a predición de DFND

Sobre un conxunto de 84 mostras de ensilaxes de millo dos que se coñecían os valores da dixestibilidade da parede celular, determinada *in vivo*, se explorou a relación entre o valor de DFND e a composición química das mostras, avaliando a capacidade preditiva das ecuacións empíricas construídas a tal efecto. Na Táboa 67 se mostran os valores medios e a variabilidade dos parámetros químicos e do valor DFND da colección, así como o coeficiente de correlación entre ditos valores. Os valores medios e rango de variación dos parámetros de composición química son aproximadamente semellantes aos da colección xeral de mostras de ensilaxes de millo, xa que forman parte da mesma. O valor medio da dixestibilidade da fibra neutro deterxente foi de 51,4%, oscilando entre 32,8 a 67,6% e mostrando un coeficiente de variación (CV=15,1%) que foi algo máis do triplo do observado para o valor de DMO (CV= 4,5%) neste grupo de mostras.

Foi observada unha moderada correlación positiva (p<0,001) da DFND cos contidos en proteína (r=0,65) e coas diferentes fraccións da fibra (valores de r entre 0,47 para FND e 0,31 para LAD) e unha correlación negativa co contido en ALM (r= -0,54; p<0,001) e en MO (r= -0,24; $p<0,05$).

Táboa 67.- Características da colección de mostras de ensilaxes de millo utilizadas para estimar a dixestibilidade *in vivo* da fibra neutro deterxente mediante ecuacións empíricas baseadas en parámetros químicos

							Correlación con DFND	
Parámetro	**n**	**Media**	**SD**	**CV**	**Max**	**Min**	***r***	***p***
MO	84	96,1	0,85	0,89	97,1	91,5	-0,24	*
PB	84	6,7	1,20	17,9	10,0	3,9	0,65	***
FND	84	44,2	6,11	13,8	64,7	35,7	0,47	***
FAD	84	25,4	4,07	16,1	36,7	19,7	0,42	***
CEL	84	22,8	3,67	16,1	33,7	17,9	0,42	***
HCEL	84	18,9	2,55	13,5	29,2	15,1	0,46	***
LAD	84	2,3	0,50	21,9	3,5	1,5	0,31	***
FB	84	23,0	3,83	16,6	33,1	16,2	0,37	***
ALM	84	26,1	8,54	32,7	37,5	0,0	-0,54	***
DFND	84	51,4	7,75	15,1	67,6	32,8	-	-

MS: materia seca; MO: materia orgánica (%MS); PB: proteína bruta (%MS); FND: fibra neutro deterxente (%MS); FAD: fibra ácido deterxente (%MS); CEL: celulosa (%MS); HCEL: hemicelulosa (%MS); LAD: lignina ácido deterxente; FB: fibra bruta (%MS); ALM: amidón (%MS); DFND: dixestibilidade da FND (%); n: número de mostras; SD: desviación estándar; CV: coeficiente de variación; Max: valor máximo; Min: valor mínimo (%); r: coeficiente de correlación de Pearson; p: significación (*** p<0,001; ** p<0,01; * p<0,05; NS p>0,05: non significativo)

As ecuacións de predición do valor de DFND baseadas en análises químicas da poboación de mostras de planta enteira de millo mostraron unha baixa capacidade preditiva, como se indica na Táboa 68, onde se observan as tres ecuacións seleccionadas, ordenadas de maior a menor valor do coeficiente de determinación en calibración.

En validación cruzada, o modelo de dúas variábeis con PB e HCEL como preditores puido explicar algo menos do 50% da varianza de DFND, cun erro de predición de ±5,53%. Cando se substitúe o contido en HCEL polo de ALM na anterior ecuación, os valores da varianza explicada se reducen até o 44% e o $SECV$ aumenta até ±5,75%, mentres que o modelo univariábel con PB como único preditor puido explicar o 40% da varianza cun valor de $SECV$ de ±5,95%.

A exactitude e precisión dos modelos anteriores son claramente menores cando se aplican sobre o conxunto de mostras independentes no proceso de validación externa, suxerindo a existencia de variabilidade no colectivo externo de mostras que non está suficientemente representada no grupo de calibración. Os valores do coeficiente de determinación, do erro de predición e dos parámetros RPD_{ve} e RER_{ve} oscilaron, para os tres modelos seleccionados, entre 0,38 e 0,33 para r^2, entre ±6,23 e ±6,69% para SEP, entre 1,2 e 1,1 para RPD_{ve} e entre 5,5 e 5,3 para RER_{ve}. Coa excepción do valor de SEP, inferior ao valor límite de 2 veces o erro estándar do método de referencia (±4,45% para DFND *in vivo*), os parámetros restantes están lonxe dos valores que permitirían o uso das ecuacións de forma fiábel para a estimación en rutina do valor da dixestibilidade da parede celular de mostras independentes de ensilaxes de millo.

Táboa 68.- Ecuacións de predición da dixestibilidade da fibra neutro deterxente de ensilaxes de planta enteira de millo en base a parámetros químicos

Ecuación				Calibración		Validación cruzada		Validación externa				
				R^2	SEC	1-VR	SECV	r^2	SEP	SEPc	Bias	Pend
DFND =	10,40	+3,65 PB	+0,88 HCEL	0,50	5,57	0,49	5,53	0,38	6,23	6,20	-0,582	0,955
s.e.	*±5,02*	*±0,53*	*±0,25*									
P	*	***	***	***		***		**				
DFND =	34,80	+3,31 PB	-0,214 ALM	0,46	5,76	0,44	5,75	0,35	6,48	6,38	-1,095	0,903
s.e.	*±6,10*	*±0,65*	*±0,091*									
P	***	***	*	***		***		*				
DFND =	23,23	+4,20 PB		0,42	5,92	0,40	5,95	0,33	6,69	6,48	-1,587	0,853
s.e.	*±3,69*	*±0,54*										
P	***	***		***		***		*				

DFND: dixestibilidade da fibra neutro deterxente (%); MS: materia seca; PB: proteína bruta (%MS); HCEL: hemicelulosa (%MS); ALM: amidón (%MS); *s.e:* erro estándar; *P:* significación (*** P<0,001; ** P<0,01; * P<0,05; NS non significativo P>0,05); R^2: coeficiente de determinación do modelo de calibración; SEC: erro estándar de calibración; 1-VR: coeficiente de determinación en validación cruzada; SECV: erro estándar de validación cruzada; r^2: coeficiente de determinación en validación externa; SEP: erro estándar de predición; SEPc: erro estándar de predición corrixido por bias; Bias: diferencia media entre os valores observados e os preditos pola ecuación; Pend: pendente da regresión entre valores observados e preditos pola ecuación

4.2.3.3 Ecuacións NIRS para a predición da composición química, DMO e DFND

Na Táboa 69 se mostran as características descritivas (media, desviación estándar e rango) dos parámetros de composición química das colección de calibración e validación externa para o desenvolvemento dos modelos de predición NIRS, así como os seus correspondentes estatísticos. O tamaño total de mostras utilizadas variou, dependendo dos parámetros a predicir, sendo de entre 183 e 205 para a construción das calibracións de MO, PB, FAD e FND, de 129 para DMO, de 84 para DFND e de 79 para FB, CEL e LAD.

Os valores medios da composición química (e rango de variación) do colectivo de calibración e validación externa (en %MS) foron, respectivamente, MO: 95,7 (91,8 a 98,1) e 95,8 (93,5 a 97,4), PB: 7,1 (3,9 a 10,2) e 6,7 (5,6 a 9,7), FND: 45,8 (31,5 a 64,7) e 42,2 (30,2 a 60,7), FAD: 26,3 (16,0 a 42,6) e 24,0 (15,4 a 39,7), FB: 23,2 (17,0 a 32,3) e 21,1 (16,2 a 25,8), CEL: 22,9 (17,9 a 33,5) e 20,9 (18,4 a 25,7), LAD: 2,3 (1,0 a 3,4) e 2,1 (1,5 a 2,9) e ALM: 25,0 (0,0 a 49,0) e 29,4 (9,3 a 46,0). O valor medio de DMO no colectivo de calibración foi de 69,0% con rango de 60,3 a 76,8% e o de DFND foi de 51,3% con rango de 32,8 a 67,6%, mentres que no de validación externa os correspondentes valores foron, para DMO de 69,5% (rango de 62,2 a 75,3%) e para DFND de 51,9% (rango de 38,5 a 63,9%). Tanto o colectivo de calibración como de validación externa mostraron unha alta variabilidade para todos os parámetros, indicando unha elevada variabilidade da colección de mostras, sendo de salientar a maior variabilidade da DFND con relación a DMO, como se indicou anteriormente.

As ecuacións de predición obtidas a partir da segunda derivada permitiron obter estimacións máis precisas e exactas para todos os parámetros, excepto para a ecuación de predición do contido en FAD que foi construída utilizando o tratamento matemático de primeira derivada. Os pretratamentos espectrais utilizados na obtención das ecuacións NIRS foron en todos os casos do tipo SNV+D. O número de mostras eliminadas como anómalas respecto ao número inicial que constitúe a poboación de calibración oscilou entre 2,3 e 11,4% para as calibracións de estimación dos diferentes parámetros químicos, sendo de 10,5% para DMO e de 6,5% para DFND e non superando en ningún caso o valor máximo do 20%, como recomendan Shenk e Westerhaus (1995a) para o desenvolvemento de ecuacións NIRS.

Os coeficientes de determinación ($1-VR$) e os erros de predición ($SECV$) no proceso de validación cruzada foron, respectivamente, de 0,86 e ±0,48% para MO, de 0,88 e ±0,40% para PB, de 0,89 e ±2,21% para FND, de 0,90 e ±1,64% para FAD, de 0,48 e ±2,27% para FB, de 0,61 e ±1,91% para CEL, de 0,71 e ±0,29% para LAD, de 0,92 e ±2,80 para ALM%, de 0,77 ± 1,49% para DMO e de 0,62 e ±4,72 para DFND. O ratio $SECV/SEC$ oscilou entre 1,03 e 1,23, dentro do intervalo sinalado por Burns e Ciurczak (1992) como indicativo de calibracións NIRS robustas.

Segundo o criterio definido por Shenk *et al*. (2001) para xulgar a calidade do axuste das ecuacións en función do valor do coeficiente de determinación en validación cruzada, a calidade foi excelente ($1-VR$ ≥0,90) para a predición do contido en FAD, boa ($1-VR$ entre 0,70 e 0,89) para a predición de MO, PB, FND, LAD e DMO e mediocre ($1-VR$ entre 0,50 e 0,69) para a predición de CEL e sen utilidade preditiva ($1-VR$ <0,50) para estimar o contido en FB. Atendendo aos criterios de Williams (2014) e de Williams e Sobering (1996) para xulgar a calidade preditiva das ecuacións en base ao valores de RPD_{vc} e RER_{vc} en validación cruzada, aquela foi boa (RPD_{vc}>3 e RER_{vc}>10) para PB, FND, FAD e AMD, permitindo para estas ecuacións unha predición cuantitativa, sendo aceptábel (RPD_{vc} entre 2,5 e 3,0) para MO, permitindo unha predición cualitativa en rangos, sendo considerada sen utilidade (RPD_{vc}<2) as ecuación NIRS que para a predición dos contidos de FB, CEL e LAD. O valor dos estatísticos en validación cruzada para DMO (RPD_{vc}=2,2 e RER_{vc}=11,1) indicarían unha calidade mediocre da ecuación atendendo ao valor de RPD_{vc} entre 2 e 2,5 o cal permitiría unicamente unha clasificación básica de valores (altos, medios e baixos), se ben o valor de RER_{vc}>10 sustenta a posibilidade de utilizar a calibración NIRS para estimar cuantitativamente o valor de DMO en colectivos semellantes ao de calibración. En canto á ecuación para estimar o valor de DFND, cun valor de RPD_{vc}<2,0 e RER_{vc}<10, mostrou un peor comportamento preditivo, probabelmente debido ao superior erro do método de referencia unido a un inferior tamaño da colección.

A representación gráfica dos valores de referencia e dos valores preditos cando se aplican os modelos de calibración NIRS sobre un conxunto de mostras independentes se mostra nas Figuras 17a e 17b (parámetros químicos), na Figura 18 (dixestibilidade da materia orgánica) e na Figura 19 (dixestibilidade da parede celular). Os valores do coeficiente de determinación r^2, do erro de predición SEP e do estatístico RPD_{ve} mostrados polas diferentes ecuacións cando se aplicaron ao conxunto de validación

externa foron, respectivamente, de 0,84, ±0,41% e 2,5 para MO, de 0,84, ±0,41% e 2,5 para PB, de 0,87, ±2,08% e 2,7 para FND, de 0,83, ±1,86% e 2,3 para FAD, de 0,40, ±2,32% e 1,2 para FB, de 0,52, ±1,87% e 1,0 para CEL, de 0,44, ±0,30% e 1,3 para LAD e de 0,85, ±3,00% e 2,4 para ALM. Os valores dos estatísticos para DMO foron r^2= 0,73, SEP= ±1,84%, RPD_{ve}= 1,9 e RER_{ve}= 7,2 e para DFND foron r^2= 0,60, SEP= ±4,80%, RPD_{ve}= 1,6 e RER_{ve}= 5,3. Como se pode observar, para ningún parámetro as correspondentes ecuacións NIRS superaron o valor límite de 3,0 establecido por Williams (2014) e Williams e Sobering (1996) como necesario para poder realizar estimacións cuantitativas, sendo considerada como aceptábeis as ecuacións para estimar MO e FND, mediocres as ecuacións para PB, FAD e ALM e sen utilidade preditiva as ecuacións para o resto dos parámetros, incluídas as ecuacións NIRS para estimar os valores de DMO e DFND. Con todo, segundo o criterio indicado por Millmier *et al*. (2000), os modelos de predición NIRS que posúen valores de RER no rango entre 4 e 8 permitirían realizar unha predición cualitativa en rangos, mentres que Saeys *et al*. (2005) sitúan un valor de RPD de 1,5, como umbral mínimo para considerar aceptábel un modelo de predición NIRS, cumprindo ambos criterios as ecuacións de predición de DMO e DFND, aplicadas ao conxunto de validación externa, así como as ecuacións NIRS para a predición dos parámetros químicos, a excepción dos contidos en FB, CEL e LAD.

Por outra banda, os criterios de Shenk *et al*. (2001) e de Shenk e Westerhaus (1991b) permiten a valoración adicional da validez das ecuacións para xulgar acerca da súa robustez e fiabilidade en análises de rutina sobre mostras externas, indicando valores límite de r^2 ≥0,60, de $bias$= ±0,60 SEC, de SEP_c ≤1,30 SEC e de valor da pendente entre 0,9 e 1,1. Deixando aparte ás ecuacións NIRS para estimar FB, CEL e LAD en ensilaxes de millo, o resto das ecuacións mostraron valores dentro dos límites recomendados (MO, FND, FAD) ou aproximados (PB, DMO, DFND) o que permitiría a utilización das ecuacións para a predición destes parámetros en conxuntos de mostras independentes. Adicionalmente o valor de SEP das respectivas ecuacións para MO, PB, FND, FAD, DMO e DFND foi ≤ 2 veces o valor do erro estándar do método de referencia, co cal, seguindo as clásicas recomendacións de Windham *et al.* (1989) e de Marten *et al.* (1989) as ecuacións NIRS serían aceptábeis para a predición de ditos parámetros.

Táboa 69.- Estatísticos de calibración e validación cruzada das ecuacións NIRS para a estimación da composición química e da dixestibilidade da materia orgánica e da parede celular de mostras de ensilaxes de planta enteira de millo

Parámetro	Scatter	Tratamento matemático	Calibración										Validación cruzada			
			n	Outliers	T	Media	SD	Min	Max	Rango	R^2	SEC	1-VR	SECV	RPDvc	RERvc
MO	SNV+D	2,10,5,1	164	10	8	95,7	1,3	91,8	98,1	6,2	0,89	0,42	0,86	0,48	2,7	13,1
PB	SNV+D	2,4,4,1	170	4	10	7,1	1,2	3,9	10,2	6,3	0,94	0,37	0,88	0,40	3,1	15,8
FND	SNV+D	2,10,5,1	148	8	8	45,8	7,0	31,5	64,7	33,2	0,92	1,89	0,89	2,21	3,2	15,0
FAD	SNV+D	1,4,4,1	161	8	8	26,3	5,3	16,0	42,6	26,6	0,93	1,39	0,90	1,64	3,2	16,2
FB	SNV+D	2,4,4,1	61	5	1	23,2	3,8	17,0	32,3	15,3	0,52	2,17	0,48	2,27	1,7	6,7
CEL	SNV+D	2,4,4,1	61	7	3	22,9	3,5	17,9	33,5	15,6	0,70	1,64	0,61	1,91	1,9	8,2
LAD	SNV+D	2,6,4,1	61	7	6	2,3	0,5	1,0	3,4	2,4	0,80	0,23	0,71	0,29	1,8	8,4
ALM	SNV+D	2,4,4,1	152	9	6	25,0	10,1	0,0	49,0	49,0	0,94	2,39	0,92	2,80	3,6	17,5
DMO	SNV+D	2,10,5,1	99	10	2	69,0	3,3	60,3	76,8	16,5	0,78	1,44	0,77	1,49	2,2	11,1
DFND	SNV+D	2,10,5,1	64	4	6	51,3	7,9	32,8	67,6	34,8	0,71	4,13	0,62	4,72	1,7	7,4

Parámetro	Validación externa														
	n	Media	SD	Min	Max	Rango	r^2	SEP	SEPc	Bias	Pend.	RPDve	RERve	GH	NH
MO	35	95,8	1,0	93,5	97,4	3,9	0,84	0,41	0,42	-0,04	0,97	2,5	9,4	0,90	0,36
PB	35	6,7	1,0	5,6	9,7	4,2	0,84	0,41	0,40	-0,11	0,88	2,3	10,3	0,90	0,36
FND	35	42,2	5,6	30,2	60,7	30,4	0,87	2,08	2,04	-0,52	1,00	2,7	14,6	0,90	0,36
FAD	35	24,0	4,3	15,4	39,7	24,4	0,83	1,86	1,78	-0,62	0,94	2,3	13,1	0,90	0,36
FB	18	21,1	2,7	16,2	25,8	9,6	0,40	2,32	2,07	-1,17	0,97	1,2	4,1	0,67	0,30
CEL	18	20,9	1,9	18,4	25,7	7,3	0,52	1,87	1,49	-1,19	0,68	1,0	3,9	0,67	0,30
LAD	18	2,1	0,4	1,5	2,9	1,4	0,44	0,30	0,30	-0,06	0,70	1,3	4,6	0,67	0,30
ALM	35	29,4	7,1	9,3	46,0	36,7	0,85	3,00	2,93	0,80	0,86	2,4	12,3	0,90	0,36
DMO	30	69,5	3,5	62,2	75,3	13,2	0,73	1,84	1,84	0,29	1,11	1,9	7,2	0,86	0,34
DFND	20	51,9	7,5	38,5	63,9	25,4	0,60	4,80	4,90	0,43	1,19	1,6	5,3	0,79	0,29

SNV+D: standard normal variate+detrend; n: número de observacións; Outliers: número de mostras anómalas eliminadas; T: número de factores da regresión; SD: desviación estándar; Min: valor mínimo; Max: valor máximo; SEC: erro estándar de calibración; R^2: coeficiente de determinación do modelo de calibración; SEC: erro estándar de calibración; 1-VR: coeficiente de determinación en validación cruzada; SECV: erro estándar de validación cruzada; RPDvc: ratio entre a desviación estándar e o erro de predición en validación cruzada; RERvc: ratio entre rango de valores e o erro de predición en validación cruzada; r^2: coeficiente de determinación en validación externa; SEP:erro estándar de predición; SEPc: erro estándar de predición corrixido por bias; Bias: diferencia media entre os valores observados e os preditos pola ecuación; Pend: pendente da regresión; RPDve: ratio entre a desviación estándar e o erro de predición en validación externa; RERve: ratio entre rango de valores e o erro de predición en validación externa; GH e NH: distancias de Mahalanobis; MS: materia seca; MO: materia orgánica (%MS); PB: proteína bruta (%MS); FND: fibra neutro deterxente (%MS); FAD: fibra ácido deterxente (%MS); FB: fibra bruta (%MS); CEL: celulosa (%MS); LAD: lignina ácido deterxente (%MS); ALM: amidón (%MS); DMO: dixestibilidade da materia orgánica (%); DFND: dixestibilidade da fibra neutro deterxente (%)

Figura 17a.- Plot de valores de composición química medidos polos métodos de referencia e de valores preditos polas ecuacións NIRS para mostras de ensilaxes de planta enteira de millo

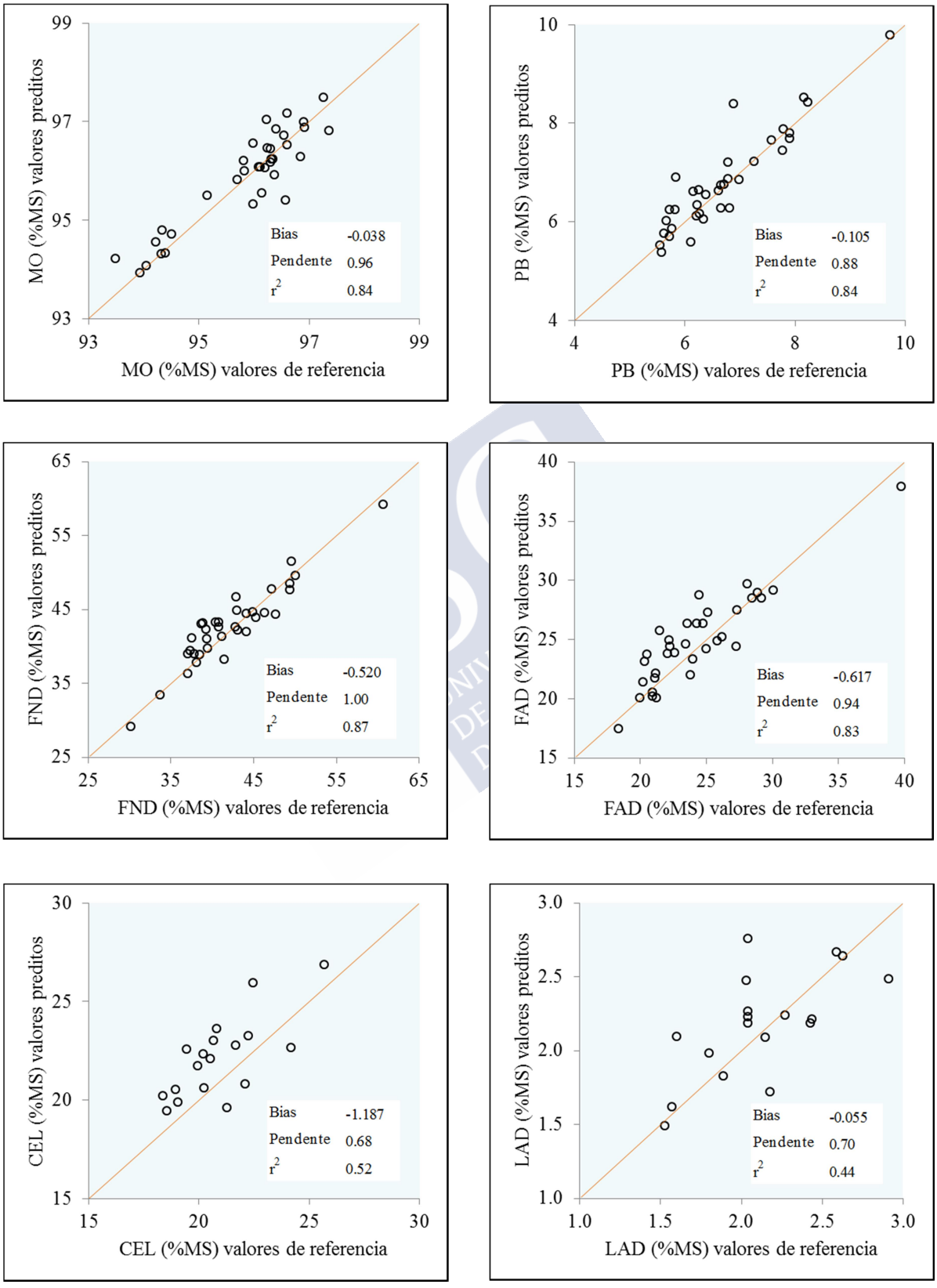


Figura 17b.- Plot de valores de composición química medidos polos métodos de referencia e de valores preditos polas ecuacións NIRS para mostras de ensilaxes de planta enteira de millo (Continuación)

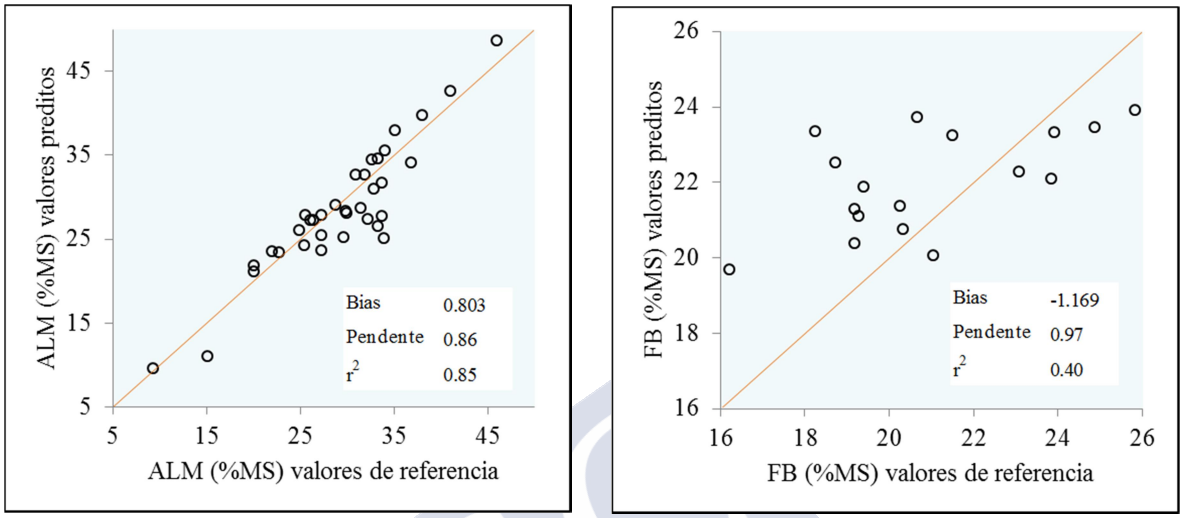


Figura 18.- Plot de valores de dixestibilidade da materia orgánica medidos polo método de referencia e de valores preditos polas ecuacións NIRS para mostras de ensilaxes de planta enteira de millo

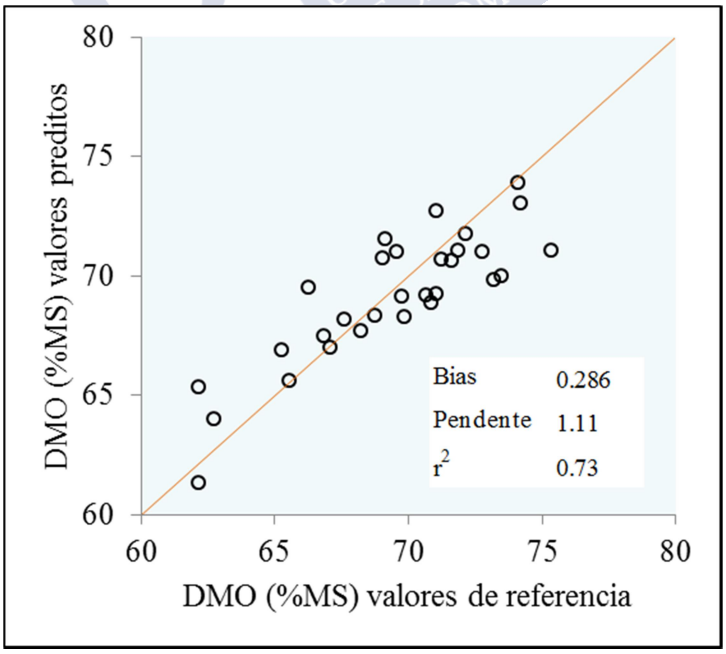
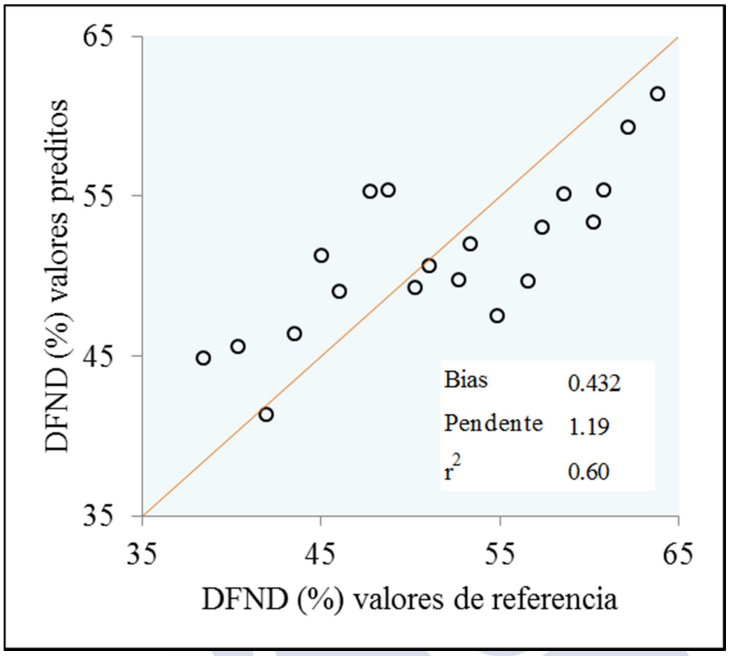


Figura 19.- Plot de valores de dixestibilidade da fibra neutro deterxente medidos polo método de referencia e de valores preditos polas ecuacións NIRS para mostras de ensilaxes de planta enteira de millo



4.3 Modelos preditivos para determinar o valor nutricional de fenos de herba

4.3.1 Ecuacións empíricas para a predición de DMO

Valores medios da colección

Na Táboa 70 se mostran os valores da colección de fenos de herba que foron utilizados para desenvolver as ecuacións de predición da dixestibilidade da materia orgánica en base á composición química das mostras. Os contidos medios (e rango de variación), expresados en %MS, foron MO: 94,1 (87,8 a 99,6), PB: 6,8 (3,9 a 16,7), FND: 70,1 (43,9 a 84,9), FAD: 40,8 (29,8 a 53,8) e HCEL: 29,3 (14,1 a 35,7). O valor medio de DMO foi de 50,8%, oscilando entre un valor mínimo de 28,4% e un máximo de 66,9%. A variabilidade observada para os diferentes parámetros da colección de fenos, ordenada de maior a menor en función do seu coeficiente de variación (CV) foi PB (32,9%), HCEL (15%), FND (10,4%), FAD (9,9%) e MO (2,2%), mentres que o valor correspondente á DMO (CV=14%) se considera alto, comparado co observado para os distintos grupos de forraxes estudados no presente traballo.

Táboa 70.- Composición química e dixestibilidade da materia orgánica da colección de mostras de fenos de herba utilizadas na obtención de ecuacións empíricas para a predición de DMO

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 deterxente (%MS); FAD: fibra ácido deterxente (%MS); HCEL: hemicelulosa (%MS); DMO: dixestibilidade da MO (%); n: número de mostras; SD: desviación estándar; CV: coeficiente de variación; Max: valor máximo; Min: valor mínimo

Correlacións entre composición química e dixestibilidade

A matriz de correlacións entre os parámetros de composición química e a dixestibilidade da materia orgánica para o conxunto de mostras de feno de herba se mostra na Táboa 71. Foi observada a existencia dunha alta correlación negativa (p<0,001) entre o valor de DMO e as diferentes fraccións da fibra, especialmente co contido en FND (r= -0,85) e FAD (r= -0,75), sendo inferior, en valor absoluto, para o

contido en HCEL (r= -0,61). A correlación de DMO co contido en MO foi tamén de signo negativo (r= -0,61), mentres que co contido en PB foi de moderada intensidade e de signo positivo (r=0,69), altamente significativas (p<0,001) en ambos casos.

Se detectaron, por outra parte, a existencia de correlacións significativas de signo negativo entre o contido en PB e o das diferentes fraccións da fibra, con valores de r de -0,76 para FND, -0,64 para FAD e de -0,57 para HCEL (p<0,001). A pesar de que os fenos proveñen polo xeral de cortes máis ou menos tardíos de herba no seu segundo ou terceiro ciclo de crecemento, as asociacións descritas ilustran a típica evolución dos valores de dixestibilidade e proteína, por unha banda, e os de fibra, por outra, co avance da madurez da herba, con valores de DMO e PB máis altos e valores de fibra máis baixos na herba de menor idade e o contrario na herba máis madura.

Táboa 71.- Matriz de correlacións entre parámetros de composición química e dixestibilidade da materia orgánica da colección de mostras de fenos de herba utilizada para a obtención de ecuacións empíricas para a predición de DMO

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

MS: materia seca; MO: materia orgánica (%MS); PB: proteína bruta (%MS); FND: fibra neutro deterxente (%MS); FAD: fibra ácido deterxente (%MS); HCEL: hemicelulosa (%MS); DMO: dixestibilidade da MO (%); r: coeficiente de correlación de Pearson; p: significación (*** p<0,001; ** p<0,01; * p<0,05; NS p>0,05: non significativo)

Ecuacións de predición de DMO baseadas en parámetros químicos

As ecuacións de regresión seleccionadas, así como os estatísticos de calibración e de validación cruzada se mostran na Táboa 72, estando aquelas ordenadas de maior a menor pola porcentaxe de varianza explicada en calibración. Dado o relativamente pequeno tamaño da colección, non se realizou unha validación externa das ecuacións. Unha ecuación con FND como único preditor explicou o 70% da varianza en validación cruzada, cun erro de predición $SECV$ de ±3,91%, non véndose mellorada a súa predición pola inclusión de ningún outro parámetro químico. A varianza explicada pola ecuación de dúas variábeis, con FAD e PB como preditores foi considerabelmente máis

baixa ($1-VR$=0,57) e o erro de predición $SECV$ máis elevado (±4,70%) comparado co modelo anterior. A ecuación con FAD como único preditor empeorou ulteriormente os resultados da predición, cun valor de $1-VR$ de 0,53 e de $SECV$ de ±4,86%. Os valores dos estatísticos RPD_{vc} e de RER_{vc} para as tres ecuacións foron, respectivamente, de 1,82 e 9,84 para a primeira, de 1,51 e 8,19 para a segunda e de 1,46 e 7,92 para a terceira.

Seguindo a Shenk *et al*. (2001) valores do coeficiente de determinación en validación cruzada ($1-VR$) entre 0,70 e 0,89 mostran un razoábel axuste para o modelo de predición, mentres que valores entre 0,50 e 0,69 permitirían só unha predición cualitativa básica. Por outra parte, Williams (2001) indican que valores de RPD entre 1,5 e 2,0 permiten unha predición cualitativa básica. Atendendo a estes criterios, as dúas primeiras ecuacións terían utilidade para realizar unha predición aproximada cualitativa da dixestibilidade, estando a ecuación baseada en FAD no límite da utilidade práctica para a estimación da DMO en coleccións de fenos de pradeira cunha composición semellante á da colección utilizada para obter os modelos de predición.

Táboa 72.- Ecuacións de predición da dixestibilidade da materia orgánica de fenos de herba en base a parámetros químicos

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

DMO: dixestibilidade da materia seca (%); MS: materia seca; FND: fibra ácido deterxente (%MS); FAD: fibra ácido deterxente (%MS); PB: proteína bruta (%MS); *s.e*: erro estándar do coeficiente da ecuación de regresión; *P:* significación do coeficiente da ecuación de regresión (*** *P*<0,001; ** *P*<0,01*;* * *P*<0,05); R^2: coeficiente de determinación do modelo de calibración; SEC: erro estándar de calibración; 1-VR: coeficiente de determinación en validación cruzada; SECV: erro estándar de validación cruzada

4.3.2 Ecuacións NIRS para a predición da composición química e DMO

As características descritivas dos parámetros de composición química e DMO do colectivo de mostras utilizadas para o desenvolvemento de modelos de predición NIRS se indican na Táboa 73. Os valores medios (e rango de variación) da composición química das mostras do colectivo de calibración (en %MS) foron MO: 93,2 (87,5 a

93,2), PB: 8,0 (3,8 a 17,4), FND: 65,7 (36,6 a 84,9) e FAD 38,4 (17,7 a 53,8). O valor medio de DMO foi de 50,8%, cun rango de variación de 28,4 a 66,9%. O colectivo presenta unha elevada variabilidade para todos os parámetros estudados, indicando a diversidade de mostras incluídas neste produto.

Os modelos de predición NIRS obtidos a partir da segunda derivada permitiron obter estimacións máis precisas e exactas para a estimación dos parámetros de contido en PB, FND e a DMO, mentres que para MO e FAD obtivéronse coa primeira derivada. As ecuacións NIRS para a estimación de MO, FND e DMO se construíron utilizando o método SNV+D como pretratamento espectral, mentres que para a predición do contido en PB e FAD o procedemento W-MSC permitiu optimizar o modelo de predición. O número de mostras eliminadas como anómalas oscilou entre 1,2% e 6,1% do total de mostras iniciais da colección na construción das ecuacións de predición de parámetros químicos e foi do 3,8% para o caso da predición de DMO.

Os coeficientes de determinación no proceso de validación cruzada ($1-VR$) foron superiores a 0,90 para todos os parámetros, a excepción do contido en MO ($1-VR$= 0,87), indicando unha excelente ou boa calidade na predición de tódalas variábeis (Shenk *et al*., 2001) cando as ecuacións se aplican a coleccións de mostras de similares características que as da colección de calibración utilizada neste traballo. As ecuacións cos maiores valores de $1-VR$ foron as obtidas para a predición de PB e FND (0,97 en ambos casos), seguidas de FAD (0,92) e DMO (0,91). Os valores dos erros de predición $SECV$ foron ±0,78% para MO, ±0,58% para PB, ±1,79% para FND, ±1,77% para FAD e ±1,93% para DMO. A relación entre $SECV$ e SEC oscilou entre 1,18 e 1,30, situándose dentro do intervalo sinalado por Burns e Ciurczak (1992) como indicativo de calibracións NIRS robustas. Os valores dos estatísticos RPD_{vc} e RER_{vc} foron, respectivamente, de 3,2 e 7,4 para MO, de 5,9 e 23,3 para PB, de 5,5 e 26,9 para FND, de 3,4 e 20,4 para FAD e de 3,7 e 19,9 para DMO. Os valores de RPD_{vc} de tódalas ecuacións foron superiores ao valor de 3,0 o que indica unha boa capacidade preditiva cuantitativa, seguindo os criterios de Williams (2014) e de Williams e Sobering (1996).

Táboa 73.- Estatísticos de calibración e validación cruzada das ecuacións NIRS para a estimación da composición química e da dixestibilidade da materia orgánica de mostras de fenos de pradeira

Parámetro	Scatter	Tratamento matemático	Calibración										Validación cruzada			
			n	Outliers	T	Media	SD	Min	Max	Rango	R^2	SEC	1-VR	SECV	RPDvc	RERvc
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 observacións; Outliers: número de mostras anómalas eliminadas; T: número de factores da regresión; SD: desviación estándar; Min: valor mínimo; Max: valor máximo; SEC: erro estándar de calibración; R^2: coeficiente de determinación do modelo de calibración; SEC: erro estándar de calibración; 1-VR: coeficiente de determinación en validación cruzada; SECV: erro estándar de validación cruzada; RPDvc: ratio entre a desviación estándar e o erro de predición en validación cruzada; RERvc: ratio entre rango de valores e o erro de predición en validación cruzada; MS: materia seca; MO: materia orgánica (%MS); PB: proteína bruta (%MS); FND: fibra neutro deterxente (%MS); FAD: fibra ácido deterxente (%MS); DMO: dixestibilidade da materia orgánica (%)

4.4 Modelos preditivos para determinar o valor nutricional de mesturas *unifeed*

4.4.1 Ecuacións empíricas para a predición de DMO

Valores medios da colección

Na Táboa 74 se mostran os valores medios e a variabilidade dos parámetros de composición química e da dixestibilidade da materia orgánica da colección de mostras de mesturas *unifeed* que foron utilizadas para a obtención das ecuacións de predición de DMO baseadas en constituíntes químicos como preditores. Os contidos medios (e rango de variación), expresados en %MS, foron MO: 93,1 (88,2 a 96,5), PB: 14,6 (8,2 a 18,9), FND: 41,2 (31,3 a 58,6), FAD: 23,1 (16,7 a 33,6), FB: 19,7 (14,2 a 30,1), HCEL: 18,1 (13,6 a 25,0), EE: 3,3 (1,9 a 5,5) e ALM: 21,8 (5,1 a 34,6). O valor medio de DMO foi de 70,0%, oscilando no rango entre 58,0 e 77,5%.

Táboa 74.- Composición química e dixestibilidade da materia orgánica da colección de mostras de mesturas *unifeed* utilizadas na obtención de ecuacións empíricas para a predición de DMO

Parámetro	n	Media	SD	CV	Max	Min
MO	71	93,1	1,86	2,0	96,5	88,2
PB	71	14,6	3,04	20,8	18,9	8,2
FND	71	41,2	4,87	11,8	58,6	31,3
FAD	71	23,1	3,49	15,1	33,6	16,7
FB	71	19,7	3,23	16,4	30,1	14,2
HCEL	71	18,1	1,99	11,0	25,0	13,6
ALM	71	21,8	7,07	32,4	34,6	5,1
EE	71	3,3	0,81	24,7	5,5	1,9
DMO	71	70,0	4,01	5,7	77,5	58,0

MS: materia seca; MO: materia orgánica (%MS); EE: extracto etéreo (%MS); PB: proteína bruta (%MS); FB: fibra bruta (%MS); FAD: fibra ácido deterxente (%MS); FND: fibra neutro deterxente (%MS); HCEL: hemicelulosa (%MS); ALM: amidón (%MS); DMO: dixestibilidade da MO (%); n: número de mostras; SD: desviación estándar; CV: coeficiente de variación; Max: valor máximo; Min: valor mínimo

A colección representa unha ampla variabilidade de racións completas, desde mesturas para vacas en lactación con alto contido en concentrados até mesturas forraxeiras para vacas secas. Os parámetros que mostraron máis variabilidade foron o amidón (CV=32,4%), seguido do extracto etéreo (CV=24,7%) e a proteína bruta (CV=20,8%), mentres que o parámetro que presentou a menor variabilidade foi o contido en MO (CV=2,0%), mostrando os distintos parámetros da fibra unha variabilidade intermedia,

con valores de *CV* de 16,4% para FB, de 15,1% para FND e de 11,8 e 11,0% para FAD e HCEL, respectivamente, mentres que DMO mostrou un baixo valor do coeficiente de variación (5,7%).

Correlacións entre composición química e dixestibilidade

Como se observa na Táboa 75, onde se indican os coeficientes de correlación dos parámetros de composición química e a DMO, se observa unha correlación altamente significativa (p<0,001) de signo negativo para os compoñentes da fracción fibra e de signo positivo para o contido en proteína, reflectindo parcialmente as asociacións para estes parámetros nas forraxes que compoñen as mesturas e a proporción de concentrados nas mesmas, con baixo contido en fibra e altos en proteína e dixestibilidade. O valor do coeficiente de correlación r entre DMO e os distintos parámetros foi de -0,84 para FND, -0,79 para FAD, -0,74 para FB, -0,66 para HCEL e 0,59 para PB. Se salienta tamén a elevada correlación entre FND con FB e con FAD (r=0,94 en ambos casos) e entre FAD e FB (r=0,98).

Táboa 75.- Matriz de correlacións entre parámetros de composición química e dixestibilidade da materia orgánica da colección de mostras de mesturas *unifeed* utilizadas para a obtención de ecuacións empíricas de predición de DMO

		EE	PB	FB	FND	FAD	HCEL	ALM	DMO
MO	r	-0,06	-0,62	0,01	0,13	-0,01	0,32	0,64	-0,23
	p	NS	***	NS	NS	NS	**	***	NS
EE	r	-	0,28	-0,55	-0,36	-0,47	-0,05	0,37	0,08
	p		*	***	**	***	NS	**	NS
PB	r	-	-	-0,49	-0,54	-0,47	-0,49	-0,31	0,59
	p			***	***	***	***	**	***
FB	r	-	-	-	0,94	0,98	0,58	-0,53	-0,74
	p				***	***	***	***	***
FND	r	-	-	-	-	0,94	0,80	-0,41	-0,84
	p					***	***	***	***
FAD	r	-	-	-	-	-	0,55	-0,52	-0,79
	p						***	***	***
HCEL	r	-	-	-	-	-	-	-0,10	-0,66
	p							NS	***
ALM	r	-	-	-	-	-	-	-	0,10
	p								NS

MS: materia seca; MO: materia orgánica (%MS); EE: extracto etéreo (%MS); PB: proteína bruta (%MS); FB: fibra bruta (%MS); FAD: fibra ácido deterxente (%MS); FND: fibra neutro deterxente (%MS); HCEL: hemicelulosa (%MS); ALM: amidón (%MS); DMO: dixestibilidade da MO (%); r: coeficiente de correlación de Pearson; p: significación (*** p<0,001; ** p<0,01; * p<0,05; NS p>0,05: non significativo)

Ecuacións de predición de DMO baseadas en parámetros químicos

A Táboa 76 mostra os estatísticos de regresión para os diferentes modelos que inclúen os parámetros químicos como preditores, ordenadas dentro de cada grupo en orde crecente de varianza explicada polo modelo no proceso de calibración (R^2). O modelo multivariábel que inclúe a concentración de FND, ALM e PB como preditores, mostrou en validación cruzada valores do coeficiente de determinación $1-VR$ e do erro de predición $SECV$ de 0,76 e ±1,93% na estimación de DMO. A eliminación de ALM da ecuación empeorou lixeiramente a predición, reducindo o valor de $1-VR$ a 0,73 e aumentando o de $SECV$ a ±2,07%. A ulterior eliminación de PB, deixando só a concentración de FND como preditor, reduciu o coeficiente de determinación até 0,68 e aumentou o erro de predición a ±2,26%. A outra ecuación univariábel con FAD como único preditor mostrou, de entre as seleccionadas, o valor máis baixo de $1-VR$ e o máis alto de $SECV$ (0,59 e ±2,54%, respectivamente).

Os correspondentes valores do coeficiente de determinación r^2, erro de predición SEP e estatístico RPD que se obteñen cando os catro modelos anteriores se aplican á predición de DMO do conxunto de validación externa foron, respectivamente, de 0,74, ±2,06% e 1,9 para a primeira ecuación, de 0,63, ±2,16% e 1,8 para a segunda de 0,51, ±2,45% e 1,6 para a terceira e de 0,32, ±2,90% e 1,3 para a última. Para as tres primeiras ecuacións, o valor observado de SEP foi inferior ao valor límite de 1,5 veces o valor do método de referencia na determinación de DMO (Shenk e Westerhaus, 1996), o que indica unha excelente precisión. Shenk *et al*. (2001) reportan que valores de $1-VR$ entre 0,70 e 0,89 mostran un razoábel axuste para o modelo de predición, mentres que valores entre 0,50 e 0,69 indican un axuste de mediocre calidade, establecendo Williams (2001) un rango de valores de RPD entre 1,5 e 2,0 como indicativos de que unha ecuación pode ser útil para realizar unha predición cualitativa básica. Atendendo a estes criterios, as tres primeiras ecuacións terían utilidade para realizar unha predición aproximada cualitativa do valor de DMO tanto en coleccións de mostras semellantes ao grupo de calibración como en mostras independentes, mentres que a ecuación con FAD como único preditor non sería de utilidade. O valor da pendente da regresión entre os valores preditos polas ecuacións e os valores de referencia, superiores a 1,1 para as tres primeiras ecuacións, alertan acerca da existencia de desviacións non desexadas na predición de mostras alonxadas dos valores medios, polo que o seu uso debe ser realizado con precaución.

Táboa 76.- Ecuacións de predición da dixestibilidade da materia orgánica de mostras de mesturas *unifeed* en base a parámetros químicos

Ecuación							Calibración		Validación cruzada		Validación externa				
							R^2	SEC	1-VR	SECV	r^2	SEP	SEPc	Bias	Pend
DMO =		93,52	-0,78 FND	-0,171 ALM	+2,00 PB	-0,075 PB^2	0,79	1,88	0,76	1,93	0,74	2,06	2,03	-0,086	1,26
	s.e	*±8,05*	*±0,08*	*±0,049*	*±0,77*	*±0,027*									
	P	***	***	***	*	**	***		***		***				
DMO =		75,21	-0,57 FND	+2,55 PB	-0,084 PB^2		0,75	2,03	0,73	2,07	0,63	2,16	2,14	-0,202	1,17
	s.e	*±6,58*	*±0,060*	*±0,81*	*±0,029*										
	P	***	***	**	**		***		***		***				
DMO =		98,36	-0,687 FND				0,69	2,21	0,68	2,26	0,51	2,45	2,44	0,109	1,12
	s.e	*±2,26*	*±0,054*												
	p	***	***				***		***		***				
DMO =		90,96	-0,904 FAD				0,61	2,48	0,59	2,54	0,32	2,90	2,89	-0,011	0,82
	s.e	*±1,99*	*±0,085*												
	P	***	***				***		***		***				

DMO: dixestibilidade da materia orgánica (%); MS: materia seca; FND: fibra neutro deterxente (%MS); FAD: fibra ácido deterxente (%MS); ALM: amidón (%MS); PB: proteína bruta (%MS); *s.e:* erro estándar; *P:* significación (*** P<0,001; ** P<0,01; * P<0,05; NS non significativo P>0,05); R^2: coeficiente de determinación do modelo de calibración; SEC: erro estándar de calibración; 1-VR: coeficiente de determinación en validación cruzada; SECV: erro estándar de validación cruzada; r^2: coeficiente de determinación en validación externa; SEP: erro estándar de predición; SEPc: erro estándar de predición corrixido por bias; Bias: diferencia media entre os valores observados e os preditos pola ecuación; Pend: pendente da regresión entre valores observados e preditos pola ecuación

4.4.2 Ecuacións NIRS para a predición da composición química e DMO

Na Táboa 77 se mostran as características descritivas dos distintos parámetros de composición química e a dixestibilidade da materia orgánica dos grupos de calibración e validación externa que foron utilizados para a construción das ecuacións NIRS, así como os correspondentes estatísticos. Os valores medios (e rango de variación) dos constituíntes químicos nas poboacións de calibración e de validación externa, en %MS, foron MO: 92,7 (87,9 a 96,5) e 92,7 (88,2 a 96,4), PB: 15,2 (8,1 a 19,5) e 14,4 (7,1 a 18,9), FND: 41,0 (31,0 a 67,0) e 42,7 (35,0 a 55,4), FAD: 23,1 (14,4 a 40,7) e 24,4 (16,9 a 33,4), FB: 19,5 (11,6 a 35,9) e 20,5 (13,3 a 28,9), EE: 3,3 (1,7 a 5,7) e 3,2 (2,1 a 5,1) e ALM: 21,1 (5,1 a 45,4) e 20,7 (5,9 a 30,9). O valor medio de DMO no grupo de calibración foi de 70,3% (rango 58,2 a 77,5%) e no grupo de calibración externa foi de 69,3% (rango 58,0 a 76,9%). Todos os parámetros reflectiron a ampla variabilidade que é posíbel atopar na composición de mesturas de forraxes e concentrados utilizadas na alimentación de vacas de leite.

Os modelos de predición obtidos a partir da primeira derivada permitiron obter estimacións máis precisas e exactas para todos os parámetros. Os pretratamentos espectrais utilizados na obtención das ecuacións NIRS foron de tipo *Detrend* para MO, W-MSC para FB e EE e SNV+D para PB, FND, FAD, AMD e DMO. O número de mostras eliminadas como anómalas, expresadas en porcentaxe sobre o total de mostras iniciais da colección, oscilou entre 2,1 e 5,3% para as ecuacións de predición dos constituíntes químicos e foi de 1,9% para as ecuacións de predición de DMO.

Os coeficientes de determinación ($1-VR$) e os erros de predición ($SECV$) no proceso de validación cruzada foron, respectivamente, de 0,92 e ±0,45% para MO, de 0,98 e ±0,40% para PB, de 0,98 e ±0,74% para FND, de 0,95 e ±0,88% para FAD, de 0,98 e ±0,58% para FB, de 0,98 e ±0,12% para EE, de 0,99 e ±0,81% para ALM e de 0,80 e de ±1,63% para DMO. O ratio $SECV/SEC$ oscilou entre 1,18 e 1,31 estando dentro do intervalo sinalado por Burns e Ciurczak (1992) como indicativo de calibracións NIRS robustas. Segundo o criterio definido por Shenk *et al*. (2001) para xulgar a calidade do axuste das ecuacións en función do valor do coeficiente de determinación en validación cruzada, esta foi excelente ($1-VR$ ≥0,90) para a predición de tódolos constituíntes químicos das mostras *unifeed*, sendo categorizada de boa ($1-VR$ entre 0,70 e 0,89) para a predición de DMO. Atendendo aos criterios de Williams (2014) e de Williams e

Sobering (1996) para xulgar a calidade preditiva das ecuacións en base ao valores de RPD_{vc} e RER_{vc} en validación cruzada, aquela foi boa (RPD_{vc}>3 e RER_{vc}>10) na estimación de tódolos parámetros químicos da colección, permitindo para estas ecuacións unha predición cuantitativa, sendo de mediocre calidade (RPD_{vc} entre 2,0 e 2,5) para a estimación de DMO, se ben o valor do estatístico RER_{vc} para esta ecuación (11,8) supera o valor mínimo de 10 indicado por Williams (2014) como proba da aptitude do modelo para ser usado en análise cuantitativo.

A representación gráfica dos valores de referencia e dos valores preditos cando se aplican os modelos de calibración NIRS sobre un conxunto de mostras independentes se mostra nas Figuras 20a e 20b (parámetros químicos) e na Figura 21 (dixestibilidade da materia orgánica). Os valores do coeficiente de determinación r^2, do erro de predición SEP e do estatístico RPD_{ve} foron, respectivamente, de 0,90, ±0,54% e 3,4 para MO, de 0,97, ±0,52% 6,2 para PB, de 0,98, ±0,91% e 6,2 para FND, de 0,95, ±0,89% e 4,6 para FAD, de 0,96, ±0,76% e 5,0 para FB, de 0,98, ±0,12% e 6,6 para EE, de 0,99, ±0,87% e 8,4 para ALM e de 0,83, ±1,89% e 2,5 para DMO. Atendendo aos criterios de Williams (2014) e de Williams e Sobering (1996), a calidade preditiva dos modelos de calibración en base ao valores de RPD_{ve} en validación externa foi boa para todas as ecuacións de predición dos constituíntes químicos, permitindo realizar predicións cuantitativas con alta fiabilidade sobre mostras independentes, sendo aceptábel para a predición cualitativa de DMO. O valor RER_{ve} para este parámetro, sen embargo, está no límite de aceptación da validez da ecuación para realizar predicións cuantitativas, segundo o indicado por Williams (2014).

A validez das ecuacións para xulgar acerca da súa robustez e fiabilidade en análises de rutina sobre mostras externas seguindo o método indicado por indicados por Shenk *et al*. (2001) e de Shenk e Westerhaus (1991b), indican un bo comportamento das ecuacións obtidas, cumprindo os criterios r^2 ≥0,60, de $bias$ = ±0,60 SEC e de valor da pendente entre 0,9 e 1,1 para tódolos modelos, se ben o criterio de que o valor de SEP_c non exceda do valor 1,30 SEC foi cumprido integramente polas ecuacións de estimación de EE e ALM e de forma aproximada para MO, PB, FND, FAD, FB e DMO, indicando a existencia dun determinado grao de variabilidade no conxunto de mostras externas que non está perfectamente recollida no conxunto de calibración para estes parámetros. Adicionalmente, en tódolos casos se cumpriu que o valor do erro de predición SEP foi

inferior a 2 veces o erro estándar do método de referencia, indicando unha baixa incertidume como indican Shenk e Westerhaus (1996).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Táboa 77.- Estatísticos de calibración e validación cruzada das ecuacións NIRS para estimación da composición química e da dixestibilidade da materia orgánica de mostras de mesturas *unifeed*

Parámetro	Scatter	Tratamento matemático	Calibración										Validación cruzada			
			n	Outliers	T	Media	SD	Min	Max	Rango	R^2	SEC	1-VR	SECV	RPDvc	RERvc
MO	D	1,10,10,1	93	2	9	92,7	1,6	87,9	96,5	8,6	0,94	0,36	0,92	0,45	3,7	19,4
PB	SNV+D	1,6,4,1	93	5	9	15,2	2,7	8,1	19,5	11,3	0,99	0,33	0,98	0,40	6,6	28,2
FND	SNV+D	1,4,4,1	84	4	8	41,0	5,8	31,0	67,0	36,0	0,99	0,58	0,98	0,74	7,9	48,7
FAD	SNV+D	1,10,10,1	84	3	7	23,1	4,3	14,4	40,7	26,3	0,98	0,67	0,95	0,88	4,9	29,9
FB	W-MSC	1,5,5,1	93	4	9	19,5	3,8	11,6	35,9	24,3	0,99	0,47	0,98	0,58	6,7	42,2
EE	W-MSC	1,5,5,1	93	3	9	3,3	0,9	1,7	5,7	4,0	0,99	0,10	0,98	0,12	7,1	32,5
ALM	SNV+D	1,5,5,1	93	2	9	21,1	7,2	5,1	45,4	40,3	0,99	0,64	0,99	0,81	8,8	49,6
DMO	SNV+D	1,4,4,1	51	1	5	70,3	3,7	58,2	77,5	19,3	0,86	1,39	0,80	1,63	2,3	11,8

Parámetro	Validación externa														
	n	Media	SD	Min	Max	Rango	r^2	SEP	SEPc	Bias	Pend,	RPDve	RERve	GH	NH
MO	32	92,7	1,8	88,2	96,4	8,2	0,90	0,54	0,55	0,00	0,89	3,4	15,2	1,17	0,48
PB	32	14,4	3,2	7,1	18,9	11,8	0,97	0,52	0,52	-0,11	1,01	6,2	22,7	1,17	0,48
FND	30	42,7	5,6	35,0	55,4	20,4	0,98	0,91	0,86	0,33	1,04	6,2	22,5	1,20	0,56
FAD	30	24,4	4,1	16,9	33,4	16,5	0,95	0,89	0,89	0,14	0,98	4,6	18,5	1,20	0,56
FB	32	20,5	3,8	13,3	28,9	15,6	0,96	0,76	0,73	0,24	1,00	5,0	20,6	1,17	0,48
EE	32	3,2	0,8	2,1	5,1	3,0	0,98	0,12	0,12	-0,01	1,05	6,6	24,8	1,17	0,48
ALM	32	20,7	7,3	5,9	30,9	24,9	0,99	0,87	0,76	-0,45	1,02	8,4	28,6	1,17	0,48
DMO	20	69,3	4,8	58,0	76,9	18,9	0,83	1,89	1,93	0,14	1,04	2,5	10,0	1,11	0,49

W-MSC: multiplicative scatter correction; SNV+D: standard normal variate+detrend; D: detrend; n: número de observacións; Outliers: número de mostras anómalas eliminadas; T: número de factores da regresión; SD: desviación estándar; Min: valor mínimo; Max: valor máximo; SEC: erro estándar de calibración; R^2: coeficiente de determinación do modelo de calibración; SEC: erro estándar de calibración; 1-VR: coeficiente de determinación en validación cruzada; SECV: erro estándar de validación cruzada; RPDvc: ratio entre a desviación estándar e o erro de predición en validación cruzada; RERvc: ratio entre rango de valores e o erro de predición en validación cruzada; r^2: coeficiente de determinación en validación externa; SEP: erro estándar de predición; SEPc: erro estándar de predición corrixido por bias; Bias: diferencia media entre os valores observados e os preditos pola ecuación; Pend: pendente da regresión; RPDve: ratio entre a desviación estándar e o erro de predición en validación externa; RERve: ratio entre rango de valores e o erro de predición en validación externa; GH e NH: distancias de Mahalanobis; MS: materia seca; MO: materia orgánica (%MS); PB: proteína bruta (%MS); FND: fibra neutro deterxente (%MS); FAD: fibra ácido deterxente (%MS); FB: fibra bruta (%MS); EE: extracto etéreo (%MS); ALM: amidón (%MS); DMO: dixestibilidade da materia orgánica (%)

Figura 20a.- Plot de valores de composición química medidos polos métodos de referencia e de valores preditos polas ecuacións NIRS para mostras de mesturas *unifeed*

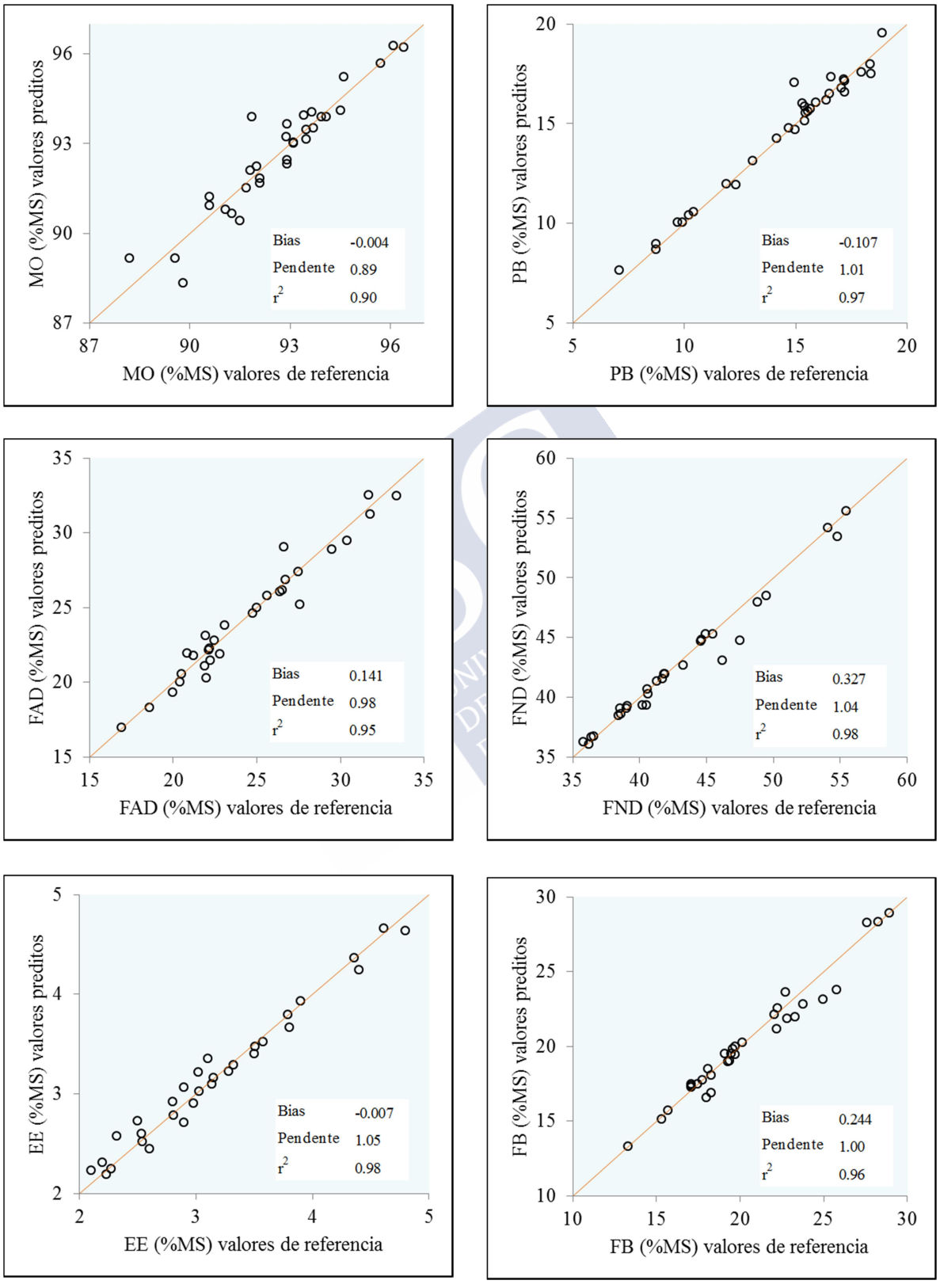


Figura 20b.- Plot de valores de composición química medidos polos métodos de referencia e de valores preditos polas ecuacións NIRS para mostras de mesturas *unifeed* (Continuación)

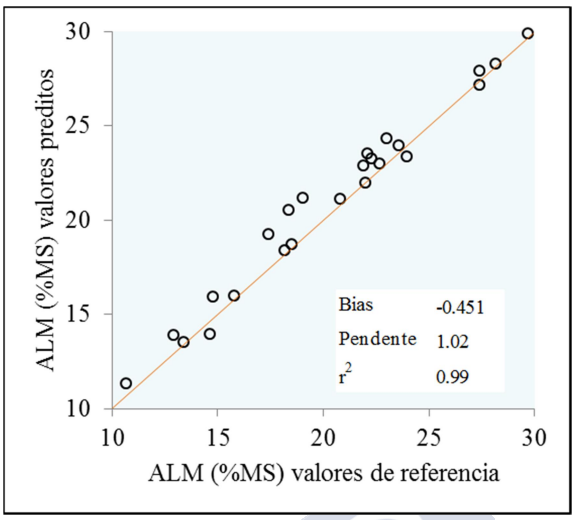
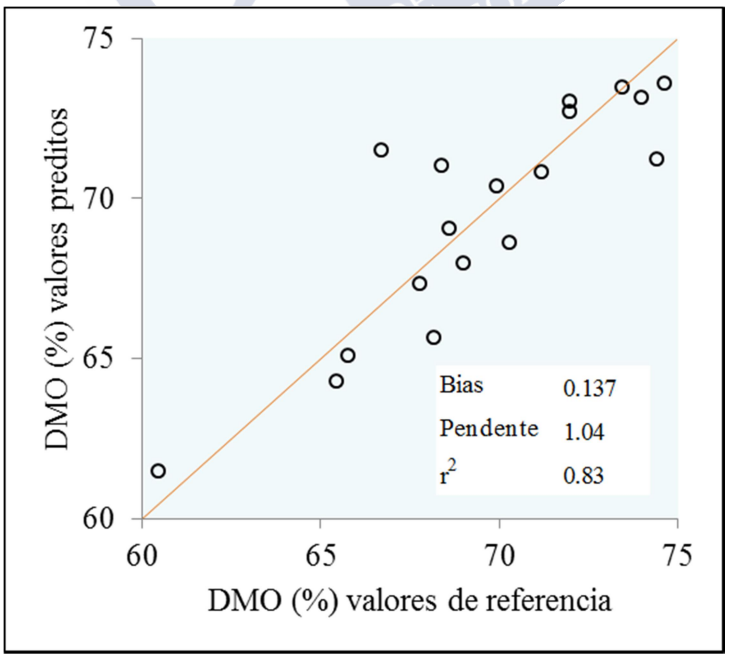


Figura 21.- Plot de valores de dixestibilidade da materia orgánica medidos polo método de referencia e de valores preditos polas ecuacións NIRS para mostras de mesturas *unifeed*



4.5 Modelos preditivos para estimación dos parámetros de degradabilidade ruminal *in situ* de ensilaxes de herba e de millo

4.5.1 Predición da degradabilidade ruminal de ensilaxes de herba

4.5.1.1 Ecuacións empíricas

Valores medios da colección

As características da composición química e dos parámetros que describen a cinética da degradabilidade ruminal da MS, da FND e da PB da colección de ensilaxes de herba que foron avaliados *in situ* se mostran na Táboa 78, mostrando unha ampla variabilidade das mostras da colección. Os contidos medios (e rango de variación) dos constituíntes químicos, expresados sobre %MS, foron: MO: 84,1 (75,4 a 93,8), PB: 11,9 (5,6 a 22,6); FND: 51,8 (36,0 a 71,7) e FAD: 35,0 (22,7 a 48,5). O parámetro químico que presentou unha maior variabilidade foi o contido en PB (CV=31,9%), seguido de FAD (CV=16,5%), FND (CV=15,8%) e MO (CV=5,6%). Os valores medios (e rangos de variación) dos parámetros $\boldsymbol{a}$: fracción inmediatamente degradábel (%), $\boldsymbol{b}$: fracción insolúbel pero potencialmente degradábel (%); $\boldsymbol{c}$: velocidade de degradación da fracción *b* (h^{-1}), $\boldsymbol{DP}$: degradabilidade potencial (%), $\boldsymbol{DT}$**:** degradabilidade teórica (%) a unha taxa de paso do rume k=0,06 h^{-1} para as compoñentes MS, FND e PB foron como se indica a continuación.

Materia seca.- Os valores correspondentes á degradabilidade ruminal da materia seca foron $\boldsymbol{a}_{MS}$: 29,7 (8,7 a 47,2), $\boldsymbol{b}_{MS}$: 51,5 (25,3 a 64,6), $\boldsymbol{c}_{MS}$: 0,058 (0,031 a 0,087), $\boldsymbol{DP}_{MS}$: 81,2 (63,3 a 94,3) e $\boldsymbol{DT}_{MS}$: 54,5 (36,3 a 71,1), con valores do coeficiente de variación de, respectivamente, 28,4%, 17,1%, 22,6%, 9,0% e 14,8%.

Parede celular.- Os valores correspondentes á degradabilidade ruminal da parede celular foron $\boldsymbol{b}_{FND}$ e $\boldsymbol{DP}_{FND}$: 74,0 (32,6 a 91,6), $\boldsymbol{c}_{FND}$: 0,045 (0,027 a 0,062) e $\boldsymbol{DT}_{FND}$: 32,0 (15,1 a 43,9), con valores do coeficiente de variación de, respectivamente, 19,2%, 16,6% e 20,3%.

Proteína bruta.- Os valores correspondentes á degradabilidade ruminal da proteína bruta foron $\boldsymbol{a}_{PB}$: 46,0 (6,6 a 75,5), $\boldsymbol{b}_{PB}$: 36,8 (5,53 a 65,0), $\boldsymbol{c}_{PB}$: 0,075 (0,022 a 0,195), $\boldsymbol{DP}_{PB}$: 82,0 (62,5 a 96,0) e $\boldsymbol{DT}_{PB}$: 65,5 (33,7 a 86,3), con valores do coeficiente de variación de, respectivamente, 37,4%, 36,1%, 34,2%, 9,2% e 18,5%.

Táboa 78.- Variabilidade dos parámetros de composición química e da cinética de degradabilidade ruminal das mostras de ensilaxes de herba determinados polos métodos de referencia

Parámetro	n	Media	SD	CV	Mínimo	Máximo	Rango
Composición química							
MO	69	84,1	4,7	5,6	75,4	93,8	18,4
PB	69	11,9	3,8	31,9	5,6	22,6	17,0
FND	69	51,8	8,2	15,8	36,0	71,7	35,7
FAD	69	35,0	5,8	16,5	22,7	48,5	25,8
Degradabilidade *in situ*							
Materia seca							
$\boldsymbol{a}_{MS}$	69	29,7	8,4	28,4	8,7	47,2	38,5
$\boldsymbol{b}_{MS}$	69	51,5	8,8	17,1	25,3	64,6	39,3
$\boldsymbol{c}_{MS}$	69	0,058	0,013	22,6	0,031	0,087	0,056
$\boldsymbol{DP}_{MS}$	69	81,2	7,3	9,0	63,3	94,3	31,0
$\boldsymbol{DT}_{MS\ (k=0,06)}$	69	54,5	8,1	14,8	36,3	71,1	34,8
Fibra neutro deterxente							
$\boldsymbol{b}_{FND}$ ($\boldsymbol{DP}_{FND}$)	69	74,0	12,3	16,6	32,6	91,6	59,0
$\boldsymbol{c}_{FND}$	69	0,045	0,009	19,3	0,027	0,062	0,035
$\boldsymbol{DT}_{FND\ (k=0,06)}$	69	32,0	6,5	20,3	15,1	43,9	28,8
Proteína bruta							
$\boldsymbol{a}_{PB}$	69	46,0	17,2	37,4	6,6	75,5	68,9
$\boldsymbol{b}_{PB}$	69	36,8	13,3	36,1	5,5	65,0	59,5
$\boldsymbol{c}_{PB}$	69	0,075	0,026	34,2	0,022	0,195	0,173
$\boldsymbol{DP}_{PB}$	69	82,8	7,6	9,2	62,5	96,0	33,5
$\boldsymbol{DT}_{PB\ (k=0,06)}$	69	65,5	12,1	18,5	33,7	86,3	52,7

n: número de mostras; SD: desviación estándar; CV: coeficiente de variación; MS: materia seca; MO: materia orgánica (%MS); PB: proteína bruta (%MS); FND: fibra neutro deterxente (%MS); FAD: fibra ácido deterxente (%MS); $\boldsymbol{a}$: fracción inmediatamente degradábel (%); $\boldsymbol{b}$: fracción insolúbel pero potencialmente degradábel (%); $\boldsymbol{c}$: velocidade de degradación ruminal da fracción *b* (h^{-1}); $\boldsymbol{DP}$: degradabilidade potencial (%); $\boldsymbol{DT}$: degradabilidade teórica (%); $\boldsymbol{k}$: taxa fraccional de paso no rume (h^{-1})

Correlacións entre composición química e parámetros de degradabilidade ruminal in situ

Na Táboa 79 se indican os coeficientes de correlación entre a composición química e os parámetros de degradabilidade ruminal *in situ* das ensilaxes de herba. En xeral, a correlación da fracción inmediatamente degradábel mostrou unha moderada correlación de signo positiva co contido en PB e de signo negativo coa fibra e o contido en MO, que se reproduce de forma aproximada para a fracción insolúbel pero potencialmente degradábel e a velocidade de degradación de MS, FND e PB e para os valores de degradabilidade potencial e degradabilidade efectiva dos citados parámetros.

Materia seca.- O valor do coeficiente de correlación da fracción $\boldsymbol{a}_{MS}$ cos contidos en FND, FAD e PB foi de r= -0,78, -0,50 e -0,51, respectivamente (p<0,001). Para a fracción $\boldsymbol{b}_{MS}$ a correlación foi máis moderada, con valores de r= 0,36 (p<0,01) para

FND e de r= -0,29 (p<0,05) para PB. As correlacións máis elevadas da velocidade de degradación $\boldsymbol{c}_{MS}$ se observaron con PB e FND (r= 0,71 e -0,69 respectivamente, p<0,001), mentres que para a degradabilidade potencial $\boldsymbol{DP}_{MS}$ o foron cos contidos de FAD e FND (r= -0,86 e -0,46 respectivamente, p<0,001) e para o valor da degradabilidade efectiva $\boldsymbol{DT}_{MS}$ os valores do coeficiente de correlación cos parámetros FND, FAD e PB foi de r= -0,87, -0,78 e 0,61, respectivamente (p<0,001).

Parede celular.- As correlacións entre os parámetros de degradabilidade da FND e os constituíntes químicos foron, en xeral, dunha intensidade máis moderada que a observada para a degradabilidade da MS. A correlación máis elevada para a fracción $\boldsymbol{b}_{FND}$ foi observada co contido en FAD (r= -0,65; p<0,001), mentres que para a velocidade de degradación da parede celular $\boldsymbol{c}_{FND}$ se observou unha correlación positiva co contido en PB (r= 0,60) e negativa cos de FND e FAD (r= -0,56 e -0,44) todas elas altamente significativas (p<0,001). Para o valor da degradabilidade efectiva $\boldsymbol{DT}_{FND}$ os constituíntes químicos cun maior valor absoluto do coeficiente de correlación foron FAD e MO con valores de r= -0,69 e -0,41, respectivamente (p<0,001).

Proteína bruta.- As correlacións das fraccións $\boldsymbol{a}_{PB}$, $\boldsymbol{b}_{PB}$ e $\boldsymbol{c}_{PB}$ coa concentración dos constituíntes químicos foron de moderada ou baixa intensidade. Para $\boldsymbol{a}_{PB}$, a maior correlación se observou con PB e con FND (r= 0,43 e -0,43 respectivamente, p<0,001), mentres que para $\boldsymbol{b}_{PB}$ o foi con MO (r= -0,48; p<0,001) e para $\boldsymbol{c}_{PB}$ se observou unha baixa correlación con PB e FND (r= 0,25 e -0,24 respectivamente, p<0,001). A intensidade das correlacións foron comparativamente máis elevadas entre os contidos en PB, FND e FAD das mostras e, respectivamente, os valores da degradabilidade potencial $\boldsymbol{DP}_{PB}$ (r= 0,67, -0,69 e -0,67 p<0,001) e da degradabilidade efectiva $\boldsymbol{DT}_{PB}$ (r= 0,59, p<0,001; -0,60, p<0,001 e -0,36, p<0,01).

Táboa 79.- Correlación entre parámetros de degradabilidade ruminal *in situ* e composición química de ensilaxes de herba

Parámetro		n	MO	PB	FND	FAD
Materia seca						
$\boldsymbol{a}_{MS}$	r	69	0,00	0,51	-0,78	-0,50
	p		NS	***	***	***
$\boldsymbol{b}_{MS}$	r	69	-0,29	-0,29	0,36	-0,23
	p		*	*	**	NS
$\boldsymbol{c}_{MS}$	r	69	-0,30	0,71	-0,69	-0,31
	p		*	***	***	**
$\boldsymbol{DP}_{MS}$	r	69	-0,35	0,24	-0,46	-0,86
	p		**	*	***	***
$\boldsymbol{DT}_{MS\ (k=0,06)}$	r	69	-0,28	0,61	-0,87	-0,78
	p		*	***	***	***
Fibra neutro deterxente						
$\boldsymbol{b}_{FND}$ ($\boldsymbol{DP}_{FND}$)	r	69	-0,36	-0,13	-0,03	-0,65
	p		**	NS	NS	***
$\boldsymbol{c}_{FND}$	r	69	-0,35	0,60	-0,56	-0,44
	p		**	***	***	***
$\boldsymbol{DT}_{FND\ (k=0,06)}$	r	69	-0,41	0,20	-0,28	-0,69
	p		***	NS	*	***
Proteína bruta						
$\boldsymbol{a}_{PB}$	r	69	0,26	0,43	-0,43	-0,18
	p		*	***	***	NS
$\boldsymbol{b}_{PB}$	r	69	-0,48	-0,17	0,17	-0,15
	p		***	NS	NS	NS
$\boldsymbol{c}_{PB}$	r	69	0,12	0,25	-0,24	0,12
	p		NS	*	*	NS
$\boldsymbol{DP}_{PB}$	r	69	-0,25	0,67	-0,69	-0,67
	p		*	***	***	***
$\boldsymbol{DT}_{PB\ (k=0,06)}$	r	69	0,07	0,59	-0,60	-0,36
	p		NS	***	***	**

MS: materia seca; MO: materia orgánica (%MS); FND: fibra neutro deterxente (%MS); FAD: fibra ácido deterxente (%MS); PB: proteína bruta; $\boldsymbol{a}$: fracción inmediatamente degradábel (%); $\boldsymbol{b}$: fracción insolúbel pero potencialmente degradábel (%); $\boldsymbol{c}$: velocidade de degradación ruminal da fracción b (h^{-1}); $\boldsymbol{DP}$: degradabilidade potencial (%); $\boldsymbol{DT}$: degradabilidade teórica (%); $\boldsymbol{k}$: taxa fraccional de paso no rume (h^{-1}); r: coeficiente de correlación de Pearson; p: significación (*** p<0,001; ** p<0,01; * p<0,05; NS p>0,05: non significativo)

Ecuacións de predición baseadas en parámetros químicos

Nas Táboas 80 a 81 se mostran as ecuacións de regresión obtidas para a predición dos parámetros que describen a degradabilidade ruminal da materia seca, da parede celular e da proteína bruta da colección de mostras de ensilaxes de herba, así como os estatísticos de calibración e validación cruzada das ecuacións. Se incluíron unicamente os modelos construídos para cada parámetro que mostraron os maiores coeficientes de determinación en calibración.

Materia seca.- Como se pode observar na Táboa 80, as ecuación seleccionadas para a predición dos diferentes parámetros de degradabilidade da MS eran modelos lineares simples que incluían as concentracións de FAD e MO para a estimación de $\boldsymbol{a}_{MS}$, de FAD e FND para a estimación de $\boldsymbol{b}_{MS}$, de PB e FND para a estimación de $\boldsymbol{c}_{MS}$, de FAD para a estimación de $\boldsymbol{DP}_{MS}$ e de PB e FAD para a estimación de $\boldsymbol{DT}_{MS}$. Os valores do coeficiente de determinación $(1-VR)$ e do erro de predición $(SECV)$ en validación cruzada das ecuacións foron, respectivamente, para $\boldsymbol{a}_{MS}$ 0,68 e ±4,78%, para $\boldsymbol{b}_{MS}$ 0,36 e ±7,03%, para $\boldsymbol{c}_{MS}$ 0,52 e ±0,0089 h^{-1}, mentres que para $\boldsymbol{DP}_{MS}$ foron 0,71 e ±4,29% e para $\boldsymbol{DT}_{MS}$ 0,71 e ±3,88%. Os valores do estatístico RPD_{vc} para as ecuacións de estimación dos parámetros $\boldsymbol{a}_{MS}$ (1,7), $\boldsymbol{b}_{MS}$ (1,2) e $\boldsymbol{c}_{MS}$ (1,4) foron inferiores aos obtidos para as ecuacións de estimación de $\boldsymbol{DP}_{MS}$ e para $\boldsymbol{DT}_{MS}$ (1,9 en ambos casos), mostrando unha maior precisión na estimación destes dous últimos valores en comparación coa dos restantes parámetros.

Parede celular.- Os parámetros da ecuacións seleccionadas para a estimación dos valores de $\boldsymbol{b}_{FND}$ foron a concentración de FAD e de FND, para a estimación de $\boldsymbol{c}_{FND}$ se utilizaron as de PB e FAD e para a de $\boldsymbol{DT}_{FND}$ se utilizou unicamente o valor de FAD (Táboa 81). Os valores dos estatísticos $1-VR$, $SECV$ e RPD_{vc} para as diferentes ecuacións en validación cruzada foron, respectivamente, para $\boldsymbol{b}_{FND}$ de 0,58, ±7,92% e 1,50, para $\boldsymbol{c}_{FND}$ de 0,37, ±0,0069 h^{-1} e 1,30, e para $\boldsymbol{DT}_{FND}$ de 0,45, ±4,78% e 1,35, mostrando unha maior fiabilidade da ecuación para a estimación da fracción da parede celular lentamente degradábel, comparada coa das outras ecuacións.

Proteína bruta.- As ecuación seleccionadas para a predición dos diferentes parámetros de degradabilidade de PB das mostras de ensilaxes incluían como preditores a concentración de FAD para a estimación de $\boldsymbol{a}_{PB}$, de FND e de MO para a estimación de $\boldsymbol{b}_{PB}$, de PB para a estimación de $\boldsymbol{c}_{N}$, de PB e FAD para a estimación de $\boldsymbol{DP}_{PB}$ e de PB e FND para a estimación de $\boldsymbol{DT}_{PB}$ (Táboa 82). En validación cruzada, a ecuación para estimación de $\boldsymbol{c}_{N}$ non acadou significación, cunha porcentaxe de varianza explicada de tan só o 4%. Para as restantes ecuacións, os valores de $1-VR$, $SECV$ e RPD_{vc} foron, respectivamente, para $\boldsymbol{a}_{PB}$ 0,12, ±15,9% e 1,0; para $\boldsymbol{b}_{PB}$ 0,30, ±11,1% e 1,2; para $\boldsymbol{DP}_{PB}$ 0,64, ±4,53% e 1,6 e para $\boldsymbol{DT}_{PB}$ 0,34, ±9,82% e 1,2. Os resultados mostran unha maior precisión na estimación da degradabilidade potencial da proteína bruta, en comparación co resto dos parámetros.

Shenk *et al*. (2001) indican que valores do coeficiente de determinación en validación cruzada $(1 - VR)$ entre 0,70 e 0,89 mostran un razoábel axuste para o modelo de predición, mentres que valores de $1 - VR$ entre 0,50 e 0,69 só permitirían realizar unha predición cualitativa básica. Por outra parte, Williams (2001) indican que valores de RPD entre 1,5 e 2,0 permiten unha predición cualitativa básica, non sendo útiles para realizar predicións aquelas ecuacións con valores de RPD inferiores a 1,5. Atendendo a estes criterios, as ecuacións empíricas para a predición de $\boldsymbol{a}_{\mathrm{MS}}$, $\boldsymbol{DP}_{\mathrm{MS}}$ e $\boldsymbol{DT}_{\mathrm{MS}}$, de $\boldsymbol{b}_{\mathrm{FND}}$ e de $\boldsymbol{DP}_{\mathrm{PB}}$ terían unha moderada utilidade preditiva, non sendo de utilidade práctica o resto de ecuacións baseadas en constituíntes químicos para a estimación dos parámetros de degradabilidade ruminal de ensilaxes de herba.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Táboa 80.- Ecuacións de predición dos parámetros de degradabilidade ruminal da materia seca de ensilaxes de herba en base a parámetros químicos

Parámetro		Ecuación			Calibración			Validación cruzada		
					R^2	SEC	CV	1-VR	SECV	CV
$\boldsymbol{a}_{MS}$		26,7	-0,932 FAD	+0,610 MO	0,70	4,66	15,6	0,68	4,78	16,0
	s.e	*±10,09*	*±0,074*	*±0,129*						
	P	*	***	***	***			***		
$\boldsymbol{b}_{MS}$		45,1	-1,059 FAD	+0,838 FND	0,44	6,68	12,9	0,36	7,03	13,6
	s.e	*±5,67*	*±0,174*	*±0,123*						
	P	***	***	***	***			***		
$\boldsymbol{c}_{MS}$		0,069	+0,0015 PB	-0,00057 FND	0,56	0,0087	15,1	0,52	0,0089	15,6
	s.e	*±0,014*	*±0,00042*	*±0,00019*						
	P	***	***	**	***			***		
$\boldsymbol{DP}_{MS}$		119,1	-1,083 FAD		0,73	3,76	4,63	0,71	3,88	4,77
	s.e	*±2,80*	*±0,078*							
	P	***	***		***			***		
$\boldsymbol{DT}_{MS\ (k=0,06)}$		76,4	-0,904 FAD	+0,810 PB	0,74	4,16	7,64	0,71	4,29	6,14
	s.e	*±4,19*	*±0,093*	*±0,141*						
	P	***	***	**	***			***		

MS: materia seca; FAD: fibra ácido deterxente (%MS); FND: fibra neutro deterxente (%MS); PB: proteína bruta (%MS); MO: materia orgánica (%MS); $\boldsymbol{DT}_{MS}$ degradabilidade teórica (%); $\boldsymbol{k}$: taxa fraccional de paso no rume (h^{-1}); $\boldsymbol{DP}_{MS}$: degradabilidade potencial (%); $\boldsymbol{a}_{MS}$: fracción inmediatamente degradábel (%); $\boldsymbol{b}_{MS}$: fracción insolúbel pero potencialmente degradábel (%); $\boldsymbol{c}_{MS}$: velocidade de degradación ruminal da fracción $\boldsymbol{b}_{MS}$ (h^{-1}); *s.e:* erro estándar do coeficiente da ecuación de regresión; *P:* significación (*** P<0,001, ** P<0,01, * P<0,05); R^2: coeficiente de determinación do modelo de calibración; SEC: erro estándar de calibración; 1-VR: coeficiente de determinación en validación cruzada; SECV: erro estándar de validación cruzada; CV: coeficiente de variación

Táboa 81.- Ecuacións de predición dos parámetros de degradabilidade ruminal da fibra neutro deterxente de ensilaxes de herba en base a parámetros químicos

Parámetro		Ecuación			Calibración			Validación cruzada		
					R^2	SEC	CV	1-VR	SECV	CV
$\boldsymbol{b}_{FND}$ ($\boldsymbol{DP}_{FND}$)		103,9	-2,11 FAD	+0,847 FND	0,63	7,58	10,2	0,58	7,92	10,7
	s.e	*±6,44*	*±0,19*	*±0,140*						
	P	***	***	**	***			***		
$\boldsymbol{c}_{FND}$		0,045	+0,0011 PB	-0,0004 FAD	0,41	0,0067	14,9	0,37	0,0069	15,3
	s.e	*±0,0068*	*±0,0002*	*±0,00015*						
	P	***	***	***	***			***		
$\boldsymbol{DT}_{FND\ (k=0,06)}$		59,3	-0,781 FAD		0,48	4,70	14,7	0,45	4,78	14,9
	s.e	*±3,50*	*±0,098*							
	P	***	***		***			***		

MS: materia seca; FND: fibra neutro deterxente (%MS); FAD: fibra ácido deterxente (%MS); PB: proteína bruta (%MS); $\boldsymbol{DT}_{FND}$ degradabilidade teórica (%); $\boldsymbol{k}$: taxa fraccional de paso no rume (h^{-1}); $\boldsymbol{DP}_{FND}$: degradabilidade potencial (%); $\boldsymbol{a}_{FND}$: fracción inmediatamente degradábel (%); $\boldsymbol{b}_{FND}$: fracción insolúbel pero potencialmente degradábel (%); $\boldsymbol{c}_{FND}$: velocidade de degradación ruminal da fracción b_{FND} (h^{-1}); *s.e:* erro estándar do coeficiente da ecuación de regresión; *P*: significación (*** *P<0,001*; ** *P*<0,01; * *P*<0,05); R^2: coeficiente de determinación do modelo de calibración; SEC: erro estándar de calibración; 1-VR: coeficiente de determinación en validación cruzada; SECV: erro estándar de validación cruzada; CV: coeficiente de variación

Táboa 82.- Ecuacións de predición dos parámetros de degradabilidade ruminal da proteína bruta de ensilaxes de herba en base a parámetros químicos

Parámetro		Ecuación			Calibración			Validación cruzada		
					R^2	SEC	CV	1-VR	SECV	CV
a_{PB}		93,3	-0,912 FAD		0,19	15,6	33,9	0,12	15,9	34,5
	s.e	*±12,1*	*±0,231*							
	P	***	***		***			**		
b_{PB}		151,9	+0,649 FND	-1,770 MO	0,36	10,7	29,1	0,30	11,1	30,3
	s.e	*±23,1*	*±0,170*	*±0,296*						
	P	***	***	***	***			***		
c_{PB}		0,054	+0,0017 PB		0,06	0,024	33,3	0,04	0,021	29,3
	s.e	*±0,0099*	*±0,0007*							
	P	***	*		*			*NS*		
DP_{PB}		94,2	- 0,661 FAD	+0,982 PB	0,66	4,47	5,40	0,64	4,53	5,47
	s.e	*±4,50*	*±0,102*	*±0,151*						
	P	***	***	***	***			***		
$DT_{PB\ (k=0,06)}$		81,4	-0,540 FND	+1,00 PB	0,40	9,46	14,4	0,34	9,82	14,9
	s.e	*±15,5*	*±0,212*	*±0,456*						
	P	***	*	***	***			***		

MS: materia seca; FND: fibra neutro deterxente (%MS); FAD: fibra ácido deterxente (%MS); PB: proteína bruta (%MS); MO: materia orgánica (%MS); DT_{PB} degradabilidade teórica (%); k: taxa fraccional de paso no rume (h^{-1}); DP_{PB}: degradabilidade potencial (%); a_{PB}: fracción inmediatamente degradábel (%); b_{PB}: fracción insolúbel pero potencialmente degradábel (%); c_{PB}: velocidade de degradación ruminal da fracción b_{PB} (h^{-1}); *s.e*: erro estándar do coeficiente da ecuación de regresión; *P:* significación (*** P<0,001; ** P<0,01; * P<0,05); R^2: coeficiente de determinación do modelo de calibración; SEC: erro estándar de calibración; 1-VR: coeficiente de determinación en validación cruzada; SECV: erro estándar de validación cruzada; CV: coeficiente de variación

4.5.1.2 Ecuacións NIRS

Os estatísticos de calibración e de validación cruzada das ecuacións de predición dos parámetros de degradabilidade da materia seca, da parede celular e da proteína bruta da colección de ensilaxes de herba se mostran na Táboa 83. Todos os modelos se obtiveron utilizando SNV+D como pretratamento espectral para corrixir o efecto da dispersión da luz e mediante a segunda derivada do espectro. O número de mostras anómalas eliminadas do conxunto de calibración respecto do número inicial de mostras oscilou entre 1,4 e 7,2% estando claramente por debaixo do valor máximo do 20% recomendado por Shenk e Westerhaus (1995a) no desenvolvemento de ecuacións de calibración NIRS. O comportamento preditivo das distintas ecuacións se describe a continuación.

Materia seca

Os coeficientes de determinación ($1-VR$) e o erro de predición ($SECV$) das ecuacións NIRS para a estimación dos parámetros de degradabilidade ruminal da materia seca foron, para $\boldsymbol{a}_{\mathrm{MS}}$ 0,87 e ±2,96%, para $\boldsymbol{b}_{\mathrm{MS}}$ 0,86 e ±3,35%, para $\boldsymbol{c}_{\mathrm{MS}}$ 0,58 e ±0,0086 h^{-1}, para $\boldsymbol{DP}_{\mathrm{MS}}$ 0,89 e ±2,45% e para $\boldsymbol{DT}_{\mathrm{MS}}$ 0,94 e ±2,11%. Os valores dos estatísticos RPD_{vc} e RER_{vc} foron, respectivamente, de 2,9 e 13,0 para $\boldsymbol{a}_{\mathrm{MS}}$, de 2,6 e 11,7 para $\boldsymbol{b}_{\mathrm{MS}}$, de 1,5 e 6,5 para $\boldsymbol{c}_{\mathrm{MS}}$, de 3,0 e 12,7 para $\boldsymbol{DP}_{\mathrm{MS}}$ e de 3,8 e 16,5 para $\boldsymbol{DT}_{\mathrm{MS}}$. A relación entre $SECV$ e SEC oscilou entre 1,09 e 1,44 dentro de intervalo sinalado por Burns e Ciurczak (1992) como indicativo de calibracións NIRS robustas.

Atendendo ao criterio de Shenk *et al.* (2001) o axuste das ecuacións foi categorizado como excelente (1-VR ≥0,90) para a estimación de $\boldsymbol{DT}_{\mathrm{MS}}$, sendo de boa calidade ($1-VR$ entre 0,70 e 0,89) para a estimación de $\boldsymbol{a}_{\mathrm{MS}}$, $\boldsymbol{b}_{\mathrm{MS}}$ e $\boldsymbol{DP}_{\mathrm{MS}}$ e de mediocre calidade ($1-VR$ entre 0,50 e 0,69) para a estimación de $\boldsymbol{c}_{\mathrm{MS}}$. Por outra banda, seguindo os criterios de Williams (2001) en base aos valores de RPD_{vc} en validación cruzada, a ecuación de estimación de $\boldsymbol{DT}_{\mathrm{MS}}$ permitiría realizar unha excelente predición cuantitativa (RPD_{vc}>3,0) deste parámetro, mentres que as ecuacións de estimación de $\boldsymbol{a}_{\mathrm{MS}}$, $\boldsymbol{b}_{\mathrm{MS}}$ e $\boldsymbol{DP}_{\mathrm{MS}}$ permiten realizar unha boa (RPD_{vc} entre 2,5 e 3,0) predición cuantitativa, avalada por valores de RER_{vc} superiores a 10 para as ecuacións de estimación destes parámetros. No entanto, a ecuación de predición de $\boldsymbol{c}_{\mathrm{MS}}$ só permitiría realizar unha predición cualitativa básica (valores altos e baixos) da velocidade de degradación da materia seca (RPD_{vc} entre 1,5 e 2,0).

A superioridade preditiva das ecuacións NIRS respecto das ecuacións empíricas para a estimación dos parámetros que describen a degradabilidade ruminal da materia seca das mostras de ensilaxe de herba se fai patente cando se comparan os estatísticos obtidos en validación cruzada. Na estimación dos diferentes parámetros, a porcentaxe de varianza explicada polas ecuacións empíricas se incrementou cando se utilizaban as ecuacións NIRS desde o 68% ao 87% para $\boldsymbol{a}_{MS}$, desde o 36% ao 86% para $\boldsymbol{b}_{MS}$, desde o 52% ao 58% para $\boldsymbol{c}_{MS}$, desde o 71% ao 89% para $\boldsymbol{DP}_{MS}$ e desde o 71% ao 94% para $\boldsymbol{DT}_{MS}$. En paralelo, o erro de estimación das ecuacións empíricas se reducía cando se aplicaban as ecuacións NIRS desde ±4,78 a ±2,96% para $\boldsymbol{a}_{MS}$, desde ±7,03 a ±3,35% para $\boldsymbol{b}_{MS}$, desde ±0,0089 a ±0,0086 h^{-1} para $\boldsymbol{c}_{MS}$, desde ±3,88 a ±2,45% para $\boldsymbol{DP}_{MS}$ e desde ±4,29 a ±2,11% para $\boldsymbol{DT}_{MS}$. A porcentaxe de redución foi do 3% para a estimación da velocidade de degradación da materia seca e oscilou entre o 37 e o 52% para os restante parámetros.

Parede celular

A capacidade preditiva das ecuacións NIRS para estimar a degradabilidade da parede celular das mostras de ensilaxe de herba foi inferior á mostrada para a degradabilidade da materia seca, sendo observados valores de $1-VR$ e $SECV$ de, respectivamente, 0,89 e ±4,28% para $\boldsymbol{b}_{FND}$, de 0,48 e ±0,0065% para $\boldsymbol{c}_{FND}$ e de 0,79 e ±3,08% para $\boldsymbol{DT}_{FND}$. Os valores dos estatísticos RPD_{vc} e RER_{vc} foron, respectivamente, de 3,1 e 13,8 para $\boldsymbol{b}_{FND}$, de 1,3 e 5,4 para $\boldsymbol{c}_{FND}$ e de 2,1 e 9,3 para $\boldsymbol{DT}_{FND}$. A relación entre $SECV$ e SEC oscilou entre 1,10 e 1,41 dentro de intervalo sinalado por Burns e Ciurczak (1992) como indicativo de calibracións NIRS robustas.

Atendendo ao criterio de Shenk *et al.* (2001) o axuste das ecuacións foi categorizado como de boa calidade ($1-VR$ entre 0,70 e 0,89) para a estimación de $\boldsymbol{a}_{FND}$, $\boldsymbol{b}_{FND}$ e $\boldsymbol{DT}_{FND}$, mentres que a ecuación para a estimación de $\boldsymbol{c}_{FND}$ non acadou o umbral mínimo ($1-VR$ >0,50) para ser considerada de utilidade con propósitos preditivos. Por outra banda, segundo o indicado por Williams (2001) os valores de RPD_{vc} mostrarían que a ecuación de estimación de $\boldsymbol{b}_{FND}$ permite realizar unha boa predición cuantitativa da fracción da parede celular lentamente degradábel, mentres que a ecuación de estimación de $\boldsymbol{DT}_{FND}$ permitiría realizar unha predición cuantitativa aproximada (RPD_{vc} entre 2,0 e 2,5), non tendo utilidade a ecuación de predición de $\boldsymbol{c}_{FND}$ (RPD_{vc} <1,5) para estimar este parámetro.

A técnica NIRS foi máis exacta e precisa para a estimación dos parámetros que describen a degradabilidade ruminal da parede celular das mostras de ensilaxe de herba comparada coas ecuacións empíricas. O incremento de varianza explicada respecto das ecuacións empíricas cando se utilizaban as ecuacións NIRS foi desde o 58% ao 89% para $\boldsymbol{b}_{\text{FND}}$, desde o 37% ao 48% para $\boldsymbol{c}_{\text{FND}}$ e desde o 45% ao 79% para $\boldsymbol{DT}_{\text{FND}}$. O erro de estimación das ecuacións empíricas se reducía cando se aplicaban as ecuacións NIRS desde ±7,92 a ±4,28% para $\boldsymbol{b}_{\text{FND}}$, desde ±0,0069 a ±0,0065 h^{-1} para $\boldsymbol{c}_{\text{FND}}$ e desde ±4,78 a ±3,08% para $\boldsymbol{DT}_{\text{FND}}$. A porcentaxe de redución foi do 6% para a estimación da velocidade de degradación da FND e oscilou entre o 46% para $\boldsymbol{b}_{\text{FND}}$ e o 36% para $\boldsymbol{DT}_{\text{FND}}$.

Proteína bruta

As ecuacións NIRS para a estimación dos parámetros de degradabilidade ruminal da proteína bruta da colección de mostras de ensilaxes de herba mostraron valores de $1-VR$ e de $SECV$ de, respectivamente, 0,83 e ±6,53% para $\boldsymbol{a}_{\text{PB}}$, de 0,81 e ±5,42%, para $\boldsymbol{b}_{\text{PB}}$, de 0,24 e ±0,0141 h^{-1} para $\boldsymbol{c}_{\text{PB}}$, de 0,87 e ±2,36% para $\boldsymbol{DP}_{\text{PB}}$ e de 0,90 e ±3,41% para $\boldsymbol{DT}_{\text{PB}}$. Os valores dos estatísticos RPD_{vc} e RER_{vc} foron, respectivamente, de 2,6 e 10,5 para $\boldsymbol{a}_{\text{PB}}$, de 2,4 e 11,0 para $\boldsymbol{b}_{\text{PB}}$, de 1,8 e 12,3 para $\boldsymbol{c}_{\text{PB}}$, de 3,2 e 14,2 para $\boldsymbol{DP}_{\text{PB}}$ e de 3,6 e 15,5 para $\boldsymbol{DT}_{\text{PB}}$. A relación entre $SECV$ e SEC oscilou entre 1,07 e 1,33 dentro de intervalo sinalado por Burns e Ciurczak (1992) como indicativo de calibracións NIRS robustas.

O axuste das ecuacións foi categorizado, segundo os criterios de Shenk *et al.* (2001) como excelente ($1-VR \geq 0{,}90$) para a estimación de $\boldsymbol{DT}_{\text{PB}}$, mentres que era de boa calidade ($1-VR$ entre 0,70 e 0,89) o das ecuacións para a estimación de $\boldsymbol{a}_{\text{PB}}$, $\boldsymbol{b}_{\text{PB}}$ e $\boldsymbol{DP}_{\text{PB}}$, sendo de mala calidade ($1-VR < 0{,}50$) a da estimación de $\boldsymbol{c}_{\text{PB}}$. Por outra banda, seguindo os criterios de Williams (2001) en base aos valores de RPD_{vc} en validación cruzada, a ecuación de estimación de $\boldsymbol{DT}_{\text{PB}}$ permitiría realizar unha excelente predición cuantitativa (RPD_{vc} >3,0) deste parámetro, mentres que as ecuacións de estimación de $\boldsymbol{a}_{\text{PB}}$, $\boldsymbol{b}_{\text{PB}}$ e $\boldsymbol{DP}_{\text{PB}}$ permiten realizar unha boa (RPD_{vc} entre 2,5 e 3,0) predición cuantitativa. Pola contra, a ecuación de predición de $\boldsymbol{c}_{\text{PB}}$ só permitiría realizar unha predición cualitativa básica (valores altos e baixos) da velocidade de degradación da proteína (RPD_{vc} entre 1,5 e 2,0), se ben o baixo valor do coeficiente de determinación da ecuación para este parámetro, inferior a 0,50 tanto en calibración

como validación cruzada indica un deficiente axuste da ecuación NIRS invalidando o seu uso preditivo.

Para a estimación dos parámetros que describen a degradabilidade ruminal da proteína bruta das mostras de ensilaxe de herba a técnica NIRS se mostrou claramente superior comparada coas ecuacións empíricas. A baixa porcentaxe de varianza explicada polas ecuacións empíricas se incrementaba substancialmente cando se utilizaban as ecuacións NIRS desde o 12% ao 83% para $\boldsymbol{a}_{PB}$, desde o 30% ao 81% para $\boldsymbol{b}_{PB}$, desde o 64% ao 87% para $\boldsymbol{DP}_{PB}$ e desde o 34% ao 90% para $\boldsymbol{DT}_{PB}$. A varianza explicada polas ecuacións empíricas e NIRS na predición de $\boldsymbol{c}_{PB}$ segue a mesma tendencia, aumentando desde 4% ao 24%, pero foi moi baixa en ambos casos. O erro observado na estimación dos diferentes parámetros de degradación da PB polas ecuacións empíricas se reducía cando se aplicaban as ecuacións NIRS desde ±15,9 a ±6,53% para $\boldsymbol{a}_{PB}$, desde ±11,1 a ±5,42% para $\boldsymbol{b}_{PB}$, desde ±0,0210 a ±0,0141 h^{-1} para $\boldsymbol{c}_{N}$, desde ±4,53 a ±2,36% para $\boldsymbol{DP}_{PB}$ e desde ±9,82 a ±3,41% para $\boldsymbol{DT}_{PB}$. A redución do erro de predición polo uso da técnica NIRS, en porcentaxe sobre o erro das ecuacións empíricas, foi de 58,7% para $\boldsymbol{a}_{PB}$, de 50,2% para $\boldsymbol{b}_{PB}$, de 32,8% para $\boldsymbol{c}_{PB}$, de 47,9% para $\boldsymbol{DP}_{PB}$ e de 65,2% para $\boldsymbol{DT}_{PB}$.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Táboa 83.- Estatísticos de calibración e validación cruzada das ecuacións NIRS para estimación dos parámetros de degradabilidade ruminal *in situ* de ensilaxes de herba

Parámetro	Scatter	Tratamento matemático	Calibración										Validación cruzada			
			n	Outliers	T	Media	SD	Min	Max	Rango	R^2	SEC	1-VR	SECV	RPDvc	RERvc
Materia seca																
$\boldsymbol{a}_{MS}$	SNV+D	2,8,4,1	69	4	4	29,7	8,4	8,7	47,2	38,5	0,91	2,51	0,87	2,96	2,9	13,0
$\boldsymbol{b}_{MS}$	SNV+D	2,10,10,1	69	4	7	51,5	8,8	25,3	64,6	39,3	0,93	2,33	0,86	3,35	2,6	11,7
$\boldsymbol{c}_{MS}$	SNV+D	2,5,5,1	69	2	2	0,058	0,013	0,031	0,087	0,056	0,64	0,008	0,58	0,01	1,5	6,5
$\boldsymbol{DP}_{MS}$	SNV+D	2,10,10,1	69	3	7	81,2	7,3	63,3	94,3	31,0	0,95	1,80	0,89	2,45	3,0	12,7
$\boldsymbol{DT}_{MS\ (k=0,06)}$	SNV+D	2,6,4,1	69	5	4	54,5	8,1	36,3	71,1	34,8	0,96	1,77	0,94	2,11	3,8	16,5
Fibra neutro deterxente																
$\boldsymbol{a}_{FND}$	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
$\boldsymbol{b}_{FND}$ ($\boldsymbol{DP}_{FND}$)	SNV+D	2,8,4,1	69	4	8	73,1	13,3	32,6	91,6	59,0	0,96	2,67	0,89	4,28	3,1	13,8
$\boldsymbol{c}_{FND}$	SNV+D	2,6,4,1	69	1	1	0,045	0,009	0,027	0,062	0,035	0,56	0,006	0,48	0,01	1,3	5,4
$\boldsymbol{DT}_{FND\ (k=0,06)}$	SNV+D	2,8,4,1	69	5	7	32,0	6,5	15,1	43,9	28,8	0,88	2,46	0,79	3,08	2,1	9,3
Proteína bruta																
$\boldsymbol{a}_{PB}$	SNV+D	2,6,4,1	69	5	6	46,0	17,2	6,6	75,5	68,9	0,94	4,90	0,83	6,53	2,6	10,5
$\boldsymbol{b}_{PB}$	SNV+D	2,10,10,1	69	3	6	36,8	13,3	5,5	65,0	59,5	0,89	4,57	0,81	5,42	2,4	11,0
$\boldsymbol{c}_{PB}$	SNV+D	2,6,4,1	69	5	1	0,075	0,026	0,022	0,195	0,173	0,31	0,013	0,24	0,01	1,8	12,3
$\boldsymbol{DP}_{PB}$	SNV+D	2,10,5,1	69	5	5	82,8	7,6	62,5	96,0	33,5	0,93	1,88	0,87	2,36	3,2	14,2
$\boldsymbol{DT}_{PB\ (k=0,06)}$	SNV+D	2,8,4,1	69	4	8	65,5	12,1	33,7	86,3	52,7	0,95	2,68	0,90	3,41	3,6	15,5

$\boldsymbol{a}$: fracción inmediatamente degradábel (%); $\boldsymbol{b}$: fracción insolúbel pero potencialmente degradábel (%); $\boldsymbol{c}$: velocidade de degradación ruminal da fracción b (h^{-1}); $\boldsymbol{DP}$: degradabilidade potencial (%); $\boldsymbol{DT}$: degradabilidade teórica (%); k: taxa fraccional de paso no rume (h^{-1}); SNV+D: standard normal variate+detrend; n: número de observacións; Outliers: número de mostras anómalas eliminadas; T: número de factores da regresión; SD: desviación estándar; Min: valor mínimo; Max: valor máximo; SEC: erro estándar de calibración; R^2: coeficiente de determinación do modelo de calibración; SEC: erro estándar de calibración; 1-VR: coeficiente de determinación en validación cruzada; SECV: erro estándar de validación cruzada; RPDvc: ratio entre a desviación estándar e o erro de predición en validación cruzada; RERvc: ratio entre rango de valores e o erro de predición en validación cruzada; MS: materia seca; FND: fibra neutro deterxente; PB: proteína bruta

4.5.2 Predición da degradabilidade ruminal de ensilaxes de millo

4.5.2.1 Ecuacións empíricas

Valores medios da colección

Na Táboa 84 se expoñen as características da composición química e dos parámetros que describen a cinética da degradabilidade ruminal da materia seca, fibra neutro deterxente, proteína bruta e amidón da colección de ensilaxes de millo avaliadas *in situ*. Os contidos medios (e rango de variación), expresados sobre %MS foron, respectivamente, MO: 96,3 (91,4 a 97,4), FND: 45,8 (37,6 a 71,4), FAD: 26,1 (19,6 a 44,7), PB: 6,12 (4,32 a 9,43), CNET: 33,1 (5,14 a 45,6) e ALM: 30,2 (2,87 a 42,8). O valor medio (e rango de variación) do nitróxeno ligado á fibra ácido deterxente (N_{FAD}), expresado en porcentaxe sobre FAD foi de 0,25 (rango 0,20 a 0,30). Os constituíntes químicos que presentaron a maior variabilidade foron o contido en ALM (CV=25,7%) e de CNET (CV=22,8%), seguidos de FAD (CV=16,1%), PB (CV=15,2%), N_{FAD} (CV=12,5%) e FND (CV=12,2%), mentres que a menor variabilidade correspondeu a MO (CV=0,94%).

Os valores medios (e rangos de variación) dos parámetros que describen a degradabilidade ruminal dos constituíntes MS, FND, PB e ALM mostraron unha ampla variabilidade, que se indica a continuación.

Materia seca.- Os valores dos parámetros que describen a degradabilidade ruminal da MS foron $\boldsymbol{a}_{MS}$: 44,6 (15,0 a 55,5), $\boldsymbol{b}_{MS}$: 42,1 (32,9 a 64,1), $\boldsymbol{c}_{MS}$: 0,039 (0,016 a 0,060), $\boldsymbol{DP}_{MS}$: 86,7 (79,1 a 100,0) e $\boldsymbol{DT}_{MS}$: 60,5 (40,8 a 70,2), con valores do coeficiente de variación de, respectivamente, 14,5%, 13,9%, 21,0%, 5,0% e 7,9%.

Parede celular.- Os valores de degradabilidade ruminal da FND foron $\boldsymbol{b}_{FND}$ e $\boldsymbol{DP}_{FND}$: 80,2 (71,7 a 99,3), $\boldsymbol{c}_{FND}$: 0,029 (0,012 a 0,043) e $\boldsymbol{DT}_{FND}$: 28,2 (16,2 a 36,3), con valores do coeficiente de variación de, respectivamente, 7,6%, 23,4%, e 18,5%.

Proteína bruta.- Os valores correspondentes á degradabilidade ruminal da PB foron $\boldsymbol{a}_{PB}$: 70,5 (56,1 a 81,2), $\boldsymbol{b}_{PB}$: 19,4 (8,0 a 36,4), $\boldsymbol{c}_{PB}$: 0,034 (0,009 a 0,107), $\boldsymbol{DP}_{PB}$: 90,0 (83,7 a 100,0) e $\boldsymbol{DT}_{PB}$: 76,6 (67,1 a 84,3), con valores do coeficiente de variación de, respectivamente, 8,0%, 29,0%, 50,3%, 4,5% e 5,5%.

Amidón.- Os valores correspondentes á degradabilidade ruminal do ALM foron $\boldsymbol{a}_{ALM}$: 74,1 (0,0 a 91,6), $\boldsymbol{b}_{ALM}$: 23,9 (6,9 a 100,0), $\boldsymbol{c}_{ALM}$: 0,112 (0,009 a 0,217), $\boldsymbol{DP}_{ALM}$: 98,0 (84,6 a 100,0) e $\boldsymbol{DT}_{ALM}$: 90,8 (73,9 a 96,3), con valores do coeficiente de variación de, respectivamente, 25,3%, 72,6%, 34,4%, 2,4% e 5,1%.

Táboa 84.- Variabilidade dos parámetros de composición química e da cinética de degradabilidade ruminal das mostras de ensilaxes de planta enteira de millo determinados polos métodos de referencia

Parámetro	n	Media	SD	CV	Mínimo	Máximo	Rango
Composición química							
MO	62	96,3	0,91	0,94	91,4	97,4	5,99
PB	62	6,12	0,93	15,2	4,32	9,43	5,11
FND	62	45,8	5,62	12,2	37,6	71,4	33,7
FAD	62	26,1	4,22	16,1	19,6	44,7	25,0
N_{FAD}	46	0,25	0,03	12,5	0,20	0,30	0,10
CNET	62	33,1	7,58	22,8	5,14	45,6	40,5
ALM	62	30,2	7,78	25,7	2,87	42,8	39,9
Degradabilidade *in situ*							
Materia seca							
$\boldsymbol{a}_{MS}$	62	44,6	6,5	14,5	15,0	55,5	40,5
$\boldsymbol{b}_{MS}$	62	42,1	5,9	13,9	32,9	64,1	31,2
$\boldsymbol{c}_{MS}$	62	0,039	0,008	21,0	0,016	0,060	0,044
$\boldsymbol{DP}_{MS}$	62	86,7	4,3	5,0	79,1	100,0	20,9
$\boldsymbol{DT}_{MS\ (k=0,06)}$	62	60,5	4,8	7,9	40,8	70,2	29,4
Fibra neutro deterxente							
$\boldsymbol{a}_{FND}$	-	-	-	-	-	-	-
$\boldsymbol{b}_{FND}$ ($\boldsymbol{DP}_{FND}$)	62	80,2	6,1	7,6	71,7	99,3	27,6
$\boldsymbol{c}_{FND}$	62	0,029	0,007	23,4	0,012	0,043	0,032
$\boldsymbol{DT}_{FND\ (k=0,06)}$	62	28,2	5,2	18,5	16,2	36,3	20,2
Proteína bruta							
$\boldsymbol{a}_{PB}$	62	70,5	5,6	8,0	56,1	81,2	25,1
$\boldsymbol{b}_{PB}$	62	19,4	5,6	29,0	8,0	36,4	28,3
$\boldsymbol{c}_{PB}$	62	0,034	0,017	50,3	0,009	0,107	0,098
$\boldsymbol{DP}_{PB}$	62	90,0	4,1	4,5	83,7	100,0	16,3
$\boldsymbol{DT}_{PB\ (k=0.06)}$	62	76,6	4,2	5,5	67,1	84,3	17,3
Amidón							
$\boldsymbol{a}_{ALM}$	62	74,1	18,8	25,3	0,0	91,6	91,6
$\boldsymbol{b}_{ALM}$	62	23,9	17,4	72,6	6,9	100,0	93,1
$\boldsymbol{c}_{ALM}$	62	0,112	0,039	34,4	0,009	0,217	0,208
$\boldsymbol{DP}_{ALM}$	62	98,0	2,4	2,4	84,6	100,0	15,5
$\boldsymbol{DT}_{ALM\ (k=0,06)}$	62	90,8	4,6	5,1	73,9	96,3	22,4

n: número de mostras; SD: desviación estándar; CV: coeficiente de variación; MS: materia seca; MO: materia orgánica (%MS); FND: fibra neutro deterxente (%MS); FAD: fibra ácido deterxente (%MS); PB: proteína bruta (%MS); N: nitróxeno; N-FAD: N ligado á FAD (% FAD); CNET: carbohidratos non estruturais (%MS); ALM: amidón; n: número de mostras; SD: desviación estándar; CV: coeficiente de variación; $\boldsymbol{a}$: fracción inmediatamente degradábel (%); $\boldsymbol{b}$: fracción insolúbel pero potencialmente degradábel (%); $\boldsymbol{c}$: velocidade de degradación ruminal da fracción $\boldsymbol{b}$ (h^{-1}); $\boldsymbol{DP}$: degradabilidade potencial (%); $\boldsymbol{DT}$: degradabilidade teórica (%); $\boldsymbol{k}$: taxa fraccional de paso no rume (h^{-1})

Correlacións entre composición química e e parámetros de degradabilidade ruminal in situ

Na Táboa 85 se indican os coeficientes de correlación entre a composición química e os parámetros de degradabilidade ruminal *in situ* das ensilaxes de planta enteira de millo. En xeral, as correlacións foron máis altas para os parámetros de degradabilidade da materia seca, sendo comparativamente inferiores para a degradabilidade da parede celular, da proteína bruta e do amidón. Dentro dos parámetros que describen a cinética de degradabilidade ruminal, as correlacións tenderon a ser máis altas para a fracción inmediatamente degradábel $\boldsymbol{a}$ e a degradabilidade efectiva $\boldsymbol{DT}$ en comparación coa observada para as fraccións lentamente degradábel $\boldsymbol{b}$ e sobre todo a velocidade de degradación $\boldsymbol{c}$ de cada constituínte.

Materia seca.- O valor do coeficiente de correlación da fracción $\boldsymbol{a}_{MS}$ mostrou unha elevada correlación negativa cos contidos en FND e FAD e positiva cos de CNET e ALM, con valores de r= -0,90, -0,82, 0,81 e 0,78, respectivamente (p<0,001). Para a fracción $\boldsymbol{b}_{MS}$ a correlación foi máis moderada e de sentido contrario, con valores de r=0,70 e 0,69 para FND e FAD e de r= -0,61 e -0,61 para CNET e ALM, sendo en todos casos altamente significativa (p<0,001). A velocidade de degradación $\boldsymbol{c}_{MS}$ unicamente mostrou unha baixa correlación co contido en FAD (r= -0,28; p<0,05), mentres que para a degradabilidade potencial $\boldsymbol{DP}_{MS}$ se observou tamén unha baixa correlación de signo negativo cos contidos de FAD e FND e de signo positivo cos de CNET e ALM, con valores respectivos do coeficiente de correlación r de -0,40 (p<0,01), -0,30 (p<0,05), 0,38 (p<0,01) e 0,35 (p<0,01). A asociación entre estes constituíntes químicos e o valor da degradabilidade efectiva $\boldsymbol{DT}_{MS}$ foi máis elevada e do mesmo sentido, con valores de r de -0,88 para FND, de -0,90 para FAD, de 0,78 para CNET e de 0,73 para ALM (p<0,001), indicando un incremento do valor da degradabilidade ruminal da materia seca das ensilaxes de millo co incremento do contido na planta en carbohidratos non estruturais, en particular de amidón, conforme avanza a madurez.

Parede celular.- As correlacións entre os parámetros de degradabilidade da FND e os constituíntes químicos foron, en xeral, de baixa intensidade en tódolos casos. A correlación máis elevada para a fracción $\boldsymbol{b}_{FND}$ foi observada co contido en N_{FAD} (r= -0,5; p<0,001) seguida co contido en PB, de signo positivo (r=0,36; p<0,01). Para a

velocidade de degradación da parede celular $\boldsymbol{c}_{FND}$ se observou unha baixa correlación negativa co contido en FAD (r= -0,38; p<0,01) mentres que para o valor da degradabilidade efectiva $\boldsymbol{DT}_{FND}$ se observou unha baixa correlación de signo negativo coas concentracións de N (r= -0,44; p<0,001), de FAD (r= -0,42; p<0,001) e de FND (r= -0,30; p<0,05), reflectindo a maior degradabilidade ruminal da parede celular co descenso da concentración da fracción fibra e da PB na materia seca da planta.

Proteína bruta.- Ao igual que para a parede celular, as correlacións entre os parámetros de degradabilidade ruminal da PB e os constituíntes químicos das mostras de ensilaxes de millo foron baixas e polo xeral non significativas. Para a fracción inmediatamente degradábel $\boldsymbol{a}_{PB}$, unicamente se observou unha correlación significativa (p<0,001), de signo positivo, coa concentración de PB (r= 0,42). Os coeficientes de correlación entre os valores da fracción lentamente degradábel $\boldsymbol{b}_{PB}$ e da velocidade de degradación ruminal $\boldsymbol{c}_{PB}$ cos constituíntes químicos non acadaron significación (p>0,05) en ningún caso. O valor da degradabilidade potencial $\boldsymbol{DP}_{PB}$ mostrou unha correlación de signo positivo coa concentración de PB e negativo coa de N_{FAD}, en ambos casos de baixa intensidade (r= 0,33; p<0,01 e r= -0,31; p<0,05, respectivamente), mentres que o valor da degradabilidade efectiva $\boldsymbol{DT}_{PB}$ mostrou un baixo coeficiente de correlación, de signo positivo (r= 0,41; p<0,001) co contido en PB.

Amidón.- O valor do coeficiente de correlación da fracción $\boldsymbol{a}_{ALM}$ mostrou unha moderada correlación negativa cos contidos en FND, FAD e PB (r= -0,65, -0,55, -0,47 respectivamente, p<0,001) e positiva cos de CNET e ALM (r= 0,67 e 0,71 respectivamente, p<0,001). Para a fracción $\boldsymbol{b}_{ALM}$ a correlación foi aproximadamente da mesma intensidade pero de signo contrario, con valores de r=0,67, 0,58 e 0,45 para FND, FAD e PB e de r= -0,68 e -0,72 para CNET e ALM, sendo en todos casos altamente significativa (p<0,001). A velocidade de degradación $\boldsymbol{c}_{ALM}$ unicamente mostrou unha correlación no mesmo sentido, pero de menor intensidade, da observada para a fracción inmediatamente degradábel, con valores de r de -0,40 (p<0,01) para FND, de -0,41 (p<0,001) para FAD, de -0,53 (p<0,001) para PB, de 0,37 (p<0,01) para CNET e de 0,38 (p<0,01) para ALM. O valor da degradabilidade potencial $\boldsymbol{DP}_{ALM}$ mostrou tamén unha baixa correlación negativa co contido en N (r= -0,43; p<0,01), sendo de igual magnitude pero de signo contrario co contido en N_{FAD} (r= 0,43; p<0,01).

Táboa 85.- Correlacións entre parámetros de degradabilidade ruminal *in situ* e composición química de ensilaxes de planta enteira de millo

Parámetro		MO	FND	FAD	PB	N_{FAD}	CNET	ALM
Materia seca								
a_{MS}	*r*	0,33	-0,90	-0,82	-0,34	0,17	0,81	0,78
	p	**	***	***	**	NS	***	***
b_{MS}	*r*	-0,20	0,70	0,69	0,37	-0,25	-0,61	-0,61
	p	NS	***	***	**	NS	***	***
c_{MS}	*r*	-0,05	-0,09	-0,28	-0,18	-0,16	0,06	0,02
	p	NS	NS	*	NS	NS	NS	NS
DP_{MS}	*r*	0,23	-0,40	-0,30	-0,02	-0,07	0,38	0,35
	p	NS	**	*	NS	NS	**	**
$DT_{MS\ (k=0,06)}$	*r*	0,32	-0,88	-0,90	-0,37	0,05	0,78	0,73
	p	*	***	***	**	NS	***	***
Fibra neutro deterxente								
b_{FND} (DP_{FND})	*r*	0,05	0,25	0,29	0,36	-0,51	-0,14	-0,14
	p	NS	*	*	**	***	NS	NS
c_{FND}	*r*	0,00	-0,24	-0,38	-0,22	-0,03	0,14	0,08
	p	NS	NS	**	NS	NS	NS	NS
$DT_{FND\ (k=0,06)}$	*r*	-0,05	-0,30	-0,42	-0,44	0,14	0,19	0,12
	p	NS	*	***	***	NS	NS	NS
Proteína bruta								
a_{PB}	*r*	0,03	-0,04	-0,04	0,42	-0,12	-0,03	-0,03
	p	NS	NS	NS	***	NS	NS	NS
b_{PB}	*r*	0,03	0,10	0,17	-0,18	-0,04	-0,01	-0,02
	p	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
c_{PB}	*r*	-0,21	-0,02	-0,10	-0,08	0,20	-0,02	-0,01
	p	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
DP_{PB}	*r*	0,08	0,10	0,17	0,33	-0,31	-0,06	-0,07
	p	NS	NS	NS	**	*	NS	NS
$DT_{PB\ (k=0,06)}$	*r*	-0,03	-0,06	-0,10	0,41	-0,08	-0,04	-0,04
	p	NS	NS	NS	***	NS	NS	NS
Amidón								
a_{ALM}	*r*	0,27	-0,65	-0,55	-0,47	0,33	0,67	0,71
	p	*	***	***	***	*	***	***
b_{ALM}	*r*	-0,29	0,67	0,58	0,45	-0,29	-0,68	-0,72
	p	*	***	***	***	*	***	***
c_{ALM}	*r*	-0,04	-0,40	-0,41	-0,53	0,35	0,37	0,38
	p	NS	**	***	***	*	**	**
DP_{ALM}	*r*	0,04	-0,24	-0,13	-0,43	0,43	0,32	0,39
	p	NS	NS	NS	***	**	*	**
$DT_{ALM\ (k=0,06)}$	*r*	-0,12	-0,06	0,09	-0,09	0,38	-0,06	0,03
	p	NS	NS	NS	NS	*	NS	NS

MS: materia seca; MO: materia orgánica (%MS); FND: fibra neutro deterxente (%MS); FAD: fibra ácido deterxente (%MS); PB: proteína bruta; ALM: amidón (%MS); ***DT***: degradabilidade teórica (%); ***k***: taxa fraccional de paso no rume (h^{-1}); ***DP***: degradabilidade potencial (%); ***a***: fracción inmediatamente degradábel (%); ***b***: fracción insolúbel pero potencialmente degradábel (%); ***c***: velocidade de degradación ruminal da fracción ***b*** (h^{-1}); ***r***: coeficiente de correlación de Pearson; ***p***: significación (*** p<0,001; ** p<0,01; * p<0,05; NS p>0,05: non significativo)

O valor da degradabilidade efectiva do amidón DT_{ALM} mostrou unicamente unha pobre correlación negativa co valor N_{FAD} (r= 0,38; p<0,05). Os resultados mostran que a

degradabilidade efectiva do amidón na planta de millo se ve pouco afectada polos cambios nos constituíntes químicos da planta, mentres que a ausencia de correlacións significativas co contido en carbohidratos non estruturais parece indicar un escaso efecto da madurez da planta sobre a degradabilidade do amidón.

Ecuacións de predición baseadas en parámetros químicos

Nas Táboas 86 a 87 se mostran as ecuacións de regresión obtidas para a predición dos parámetros que describen a degradabilidade ruminal da materia seca, da parede celular, da proteína bruta e do amidón da colección de mostras de ensilaxes de millo, así como os estatísticos de calibración e validación cruzada das ecuacións. Se incluíron unicamente os modelos construídos para cada parámetro que mostraron os maiores coeficientes de determinación en calibración.

Materia seca.- Como se mostra na Táboa 86, as ecuación seleccionadas para a predición dos diferentes parámetros de degradabilidade da MS foron modelos lineares simples que incluían as concentracións de FND para a estimación de $\boldsymbol{DP}_{\mathrm{MS}}$, $\boldsymbol{a}_{\mathrm{M}}$ e $\boldsymbol{b}_{\mathrm{MS}}$, de ALM e FND para a estimación de $\boldsymbol{c}_{\mathrm{MS}}$ e de PB e FAD para a estimación de $\boldsymbol{DT}_{\mathrm{MS}}$, Os valores do coeficiente de determinación $(1 - VR)$ e do erro de predición $(SECV)$ en validación cruzada das ecuacións foron, respectivamente, para $\boldsymbol{a}_{\mathrm{MS}}$ 0,78 e ±2,98%, para $\boldsymbol{b}_{\mathrm{MS}}$ 0,46 e ±4.28%, para $\boldsymbol{c}_{\mathrm{MS}}$ 0,05 e ±0,0079 h^{-1}, mentres que para $\boldsymbol{DP}_{\mathrm{MS}}$ foron 0,14e ±3,98% e para $\boldsymbol{DT}_{\mathrm{MS}}$ 0,78 e ±2,21%, sendo de salientar que a ecuación de estimación de $\boldsymbol{c}_{\mathrm{MS}}$ non acadou significación no proceso de validación cruzada. Os valores do estatístico RPD_{vc} para as ecuacións de estimación dos parámetros $\boldsymbol{DP}_{\mathrm{MS}}$ (1,0), $\boldsymbol{c}_{\mathrm{MS}}$ (1,0) e $\boldsymbol{b}_{\mathrm{MS}}$ (1,3) foron inferiores aos obtidos para as ecuacións de estimación de $\boldsymbol{a}_{\mathrm{MS}}$ e para $\boldsymbol{DT}_{\mathrm{MS}}$ (2,1 en ambos casos), mostrando unha maior precisión na estimación destes dous últimos valores en comparación coa dos restantes parámetros.

Parede celular.- A ecuación seleccionada para a estimación de $\boldsymbol{b}_{\mathrm{FND}}$ utilizou o contido en PB como único preditor, sendo utilizados os contidos de FAD e ALM para a estimación de $\boldsymbol{c}_{\mathrm{FND}}$ e os contidos en PB, FAD e ALM para a estimación de $\boldsymbol{DT}_{\mathrm{FND}}$ (Táboa 87). Os valores dos estatísticos de $1 - VR$, $SECV$ e RPD_{vc} para as diferentes ecuacións en validación cruzada foron, respectivamente, para $\boldsymbol{b}_{\mathrm{FND}}$ de 0,12, ±5,71% e 1,0; para $\boldsymbol{c}_{\mathrm{FND}}$ de 0,34, ±0,0054 h^{-1} e 1,3 e para $\boldsymbol{DT}_{\mathrm{FND}}$ de 0,50, ±3,71% e 1,40 o que

indica unha pobre capacidade preditiva dos parámetros de degradabilidade da FND en ensilaxes de millo utilizando preditores químicos.

Proteína bruta.- As ecuación seleccionadas para a predición dos diferentes parámetros de degradabilidade da proteína bruta das mostras de ensilaxes incluían como preditores a concentración de PB e FAD para a estimación de $\boldsymbol{a}_{\mathrm{PB}}$, de PB e FND para a estimación de $\boldsymbol{b}_{\mathrm{PB}}$, de PB para a estimación de $\boldsymbol{DP}_{\mathrm{PB}}$ e de PB e FAD para a estimación de $\boldsymbol{DT}_{\mathrm{PB}}$ (Táboa 88). Ningún constituínte químico acadou a significación mínima do 5% en calibración para ser incluído nun modelo de predición da velocidade de degradación $\boldsymbol{c}_{\mathrm{PB}}$. En validación cruzada a ecuación para a predición do valor da fracción lentamente degradábel $\boldsymbol{b}_{\mathrm{PB}}$ non foi significativa. Para os restantes parámetros de degradabilidade, os valores de $1-VR$, $SECV$ e RPD_{vc} foron, respectivamente, para $\boldsymbol{a}_{\mathrm{PB}}$ 0,23, ±4,96% e 1,1; para $\boldsymbol{DP}_{\mathrm{PB}}$ 0,07, ±3,93% e 1,0 e para $\boldsymbol{DT}_{\mathrm{PB}}$ 0,28, ±3,54% e 1,1. Os resultados mostran unha baixa precisión na estimación da degradabilidade da proteína en ensilaxes de millo.

Amidón.- Ningún dos preditores constituíntes químicos acadaron a mínima significación do 5% para seren incluídos como preditores do valor de degradabilidade efectiva do amidón nin das fraccións rapidamente degradábel $\boldsymbol{a}_{\mathrm{ALM}}$ e lentamente degradábel $\boldsymbol{b}_{\mathrm{ALM}}$ (Táboa 89). Unicamente para a estimación da velocidade de degradación $\boldsymbol{c}_{\mathrm{ALM}}$ e o valor da degradabilidade potencial $\boldsymbol{DP}_{\mathrm{ALM}}$ se obtiveron ecuacións con PB como único preditor que explicaron en calibración unha significativa fracción da variabilidade dos respectivos parámetros. En validación cruzada os valores de $1-VR$, $SECV$ e RPD_{vc} foron, respectivamente, para $\boldsymbol{c}_{\mathrm{ALM}}$ 0,27, ±0,033 h^{-1} e 1,1 e para $\boldsymbol{DP}_{\mathrm{ALM}}$ 0,18, ±2,12% e 1,1, mostrando unha baixa precisión na estimación da degradabilidade potencial do amidón.

Atendendo aos criterios de Shenk *et al.* (2001) e de Williams (2001) que exixen, respectivamente, valores mínimos do coeficiente de determinación en validación cruzada $1-VR$ >0,50 e de RPD >1,5 para que unha ecuación teña utilidade preditiva unicamente as ecuacións químicas seleccionadas para a predición de $\boldsymbol{a}_{\mathrm{MS}}$ e $\boldsymbol{DT}_{\mathrm{MS}}$ poden ser usadas para estimar estes parámetros en coleccións de mostras de millo con características semellantes ás da colección de calibración utilizada neste traballo. Ningún dos restantes modelos empíricos para a predición da degradabilidade da parede celular, da proteína e do amidón da colección de ensilaxes de millo mostraron utilidade preditiva.

Táboa 86.- Predición dos parámetros de degradabilidade ruminal da materia seca de ensilaxes de planta enteira de millo en base a parámetros químicos

Parámetro		Ecuación			Calibración			Validación cruzada		
					R^2	SEC	CV	1-VR	SECV	CV
$\boldsymbol{DT}_{MS\ (k=0,06)}$		56,9	+4,58 PB	-0,150 PB x FAD	0,80	2,14	3,53	0,78	2,21	3,65
	s.e	*±2,10*	*±0,540*	*±0,010*						
	P	***	***	***	***			***		
$\boldsymbol{DP}_{MS}$		100,7	-0,30 FND		0,15	3,98	4,58	0,14	3,98	4,59
	s.e	*±4,19*	*±0,09*							
	P	***	***		***			***		
$\boldsymbol{a}_{MS}$		91,9	-1,034 FND		0,80	2,86	6,41	0,78	2,98	6,68
	s.e	*±3,01*	*±0,065*							
	P	***	***		***			***		
$\boldsymbol{b}_{MS}$		8,75	+0,728 FND		0,48	4,24	10,0	0,46	4,28	10,1
	s.e	*±2,46*	*±0,096*							
	P	**	***		***			***		
$\boldsymbol{c}_{MS}$		0,0475	+0,00103 ALM	-0,000028 ALM x FND	0,09	0,0079	20,2	0,05	0,0079	20,2
	s.e	*±0,0049*	*±0,00042*	*±0,000011*						
	P	***	*	*	*			*NS*		

MS: materia seca; FAD: fibra ácido deterxente (%MS); FND: fibra neutro deterxente (%MS); PB: proteína bruta (%MS); ALM: amidón (%MS); $\boldsymbol{DT}_{MS}$ degradabilidade teórica (%); $\boldsymbol{k}$: taxa fraccional de paso no rume (h^{-1}); $\boldsymbol{DP}_{MS}$: degradabilidade potencial (%); $\boldsymbol{a}_{MS}$: fracción inmediatamente degradábel (%); $\boldsymbol{b}_{MS}$: fracción insolúbel pero potencialmente degradábel (%); $\boldsymbol{c}_{MS}$: velocidade de degradación ruminal da fracción $\boldsymbol{b}_{MS}$ (h^{-1}); *s.e:* erro estándar do coeficiente da ecuación de regresión; *P:* significación (*** P<0,001; ** P<0,01; * P<0,05); R^2: coeficiente de determinación do modelo de calibración; SEC: erro estándar de calibración; 1-VR: coeficiente de determinación en validación cruzada; SECV: erro estándar de validación cruzada; CV: coeficiente de variación

Táboa 87.- Predición dos parámetros de degradabilidade ruminal da fibra neutro deterxente de ensilaxes de planta enteira de millo en base a parámetros químicos

Parámetro	Ecuación				Calibración			Validación cruzada		
					R^2	SEC	CV	1-VR	SECV	CV
$\boldsymbol{DT}_{FND\ (k=0,06)}$	47,6	+6,04 PB	-0,216 PB x FAD	-0,117 PB x ALM	0,58	3,46	12,2	0,50	3,71	13,1
s.e	*±3,58*	*±1,32*	*±0,030*	*±0,016*						
P	***	***	***	***	***			***		
$\boldsymbol{b}_{FND}$ ($\boldsymbol{DP}_{FND}$)	65,6	+2,37 PB			0,13	5,70	7,10	0,12	5,71	7,11
s.e	*±4,85*	*±0,78*								
P	***	**			***			**		
$\boldsymbol{c}_{FND}$	0,103	-0,0190 FAD	-0,00081 ALM		0,38	0,0053	18,9	0,34	0,0054	19,2
s.e	*±0,013*	*±0,00031*	*±0,00017*							
P	***	***	**		***			***		

MS: materia seca; PB: proteína bruta (%MS); FAD: fibra ácido deterxente (%MS); ALM: amidón (%MS); $\boldsymbol{DT}_{FND}$ degradabilidade teórica (%); $\boldsymbol{k}$: taxa fraccional de paso no rume (h^{-1}); $\boldsymbol{DP}_{FND}$: degradabilidade potencial (%); $\boldsymbol{a}_{FND}$: fracción inmediatamente degradábel (%); $\boldsymbol{b}_{FND}$: fracción insolúbel pero potencialmente degradábel (%); $\boldsymbol{c}_{FND}$: velocidade de degradación ruminal da fracción b_{FND} (h^{-1}); *s.e:* erro estándar do coeficiente da ecuación de regresión; *P:* significación (*** P<0,001; ** P<0,01; * P<0,05); R^2: coeficiente de determinación do modelo de calibración; SEC: erro estándar de calibración; 1-VR: coeficiente de determinación en validación cruzada; SECV: erro estándar de validación cruzada; CV: coeficiente de variación

Táboa 88.- Predición dos parámetros de degradabilidade ruminal da proteína bruta de ensilaxes de planta enteira de millo en base a parámetros químicos

Parámetro		Ecuación			Calibración			Validación cruzada		
					R^2	SEC	CV	1-VR	SECV	CV
$\boldsymbol{DT}_{PB\ (k=0,06)}$		58,8	+4,61 PB	-0,064 PB x FAD	0,32	3,49	4,55	0,28	3,54	4,61
	s,e	*±3,44*	*±0,88*	*±0,017*						
	P	***	***	***	***			***		
$\boldsymbol{DP}_{PB}$		81,1	+ 1,437 PB		0,10	3,88	4,31	0,07	3,93	4,37
	s,e	*±3,30*	*±0,533*							
	P	***	***		**			*		
$\boldsymbol{a}_{PB}$		47,55	+ 5,75 PB	- 0,0754 PB x FAD	0,29	4,82	6,83	0,23	4,96	7,03
	s,e	*±4,75*	*±7,61*	*±0,023*						
	P	***	***	**	***			***		
$\mathbf{b}_{PB}$		31,6	-3,91 PB	+ 0,0416 PB x FND	0,10	4,82	27,9	0,05	6,05	31,1
	s,e	*±5,31*	*±9,54*	*±0,0195*						
	P	***	*	*	*			*NS*		
$\boldsymbol{c}_{PB}$		*Ningún parámetro acada a significación mínima do 5%*			-	-	-	-	-	-

MS: materia seca; FND: fibra ácido deterxente (%MS); FAD: fibra ácido deterxente (%MS); PB: proteína bruta (%MS); $\boldsymbol{DT}_{PB}$ degradabilidade teórica (%); $\boldsymbol{k}$: taxa fraccional de paso no rume (h^{-1}); $\boldsymbol{DP}_{PB}$: degradabilidade potencial (%); $\boldsymbol{a}_{PB}$: fracción inmediatamente degradábel (%); $\boldsymbol{b}_{PB}$: fracción insolúbel pero potencialmente degradábel (%); $\boldsymbol{c}_{PB}$: velocidade de degradación ruminal da fracción b_{PB} (h^{-1}); *s.e*: erro estándar do coeficiente da ecuación de regresión; *P:* significación (*** P<0,001; ** P<0,01; * P<0,05); R^2: coeficiente de determinación do modelo de calibración; SEC: erro estándar de calibración; 1-VR: coeficiente de determinación en validación cruzada; SECV: erro estándar de validación cruzada; CV: coeficiente de variación

Táboa 89.- Predición dos parámetros de degradabilidade ruminal do amidón de ensilaxes de planta enteira de millo en base a parámetros químicos

Parámetro		Ecuación		Calibración			Validación cruzada		
				R^2	SEC	CV	1-VR	SECV	CV
$\boldsymbol{DT}_{ALM\ (k=0,06)}$		*Ningún parámetro acada a significación mínima do 5%*		-	-	-	-	-	-
$\boldsymbol{DP}_{ALM}$		101,4	-0,0889 PB^2	0,21	2,10	2,14	0,18	2,12	2,16
	s.e	*±0,89*	*±0,022*						
	P	***	***	***			***		
$\boldsymbol{a}_{ALM}$		*Ningún parámetro acada a significación mínima do 5%*		-	-	-	-	-	-
$\boldsymbol{b}_{ALM}$		*Ningún parámetro acada a significación mínima do 5%*		-	-	-	-	-	-
$\boldsymbol{c}_{ALM}$		0,247	-0,0221 PB	0,28	0,032	28,5	0,27	0,033	28,6
	s.e	*±0,0,27*	*±0,0045*						
	P	***	***	***			***		

MS: materia seca; PB: proteína bruta (%MS); $\boldsymbol{DT}_{ALM}$ degradabilidade teórica (%); $\boldsymbol{k}$: taxa fraccional de paso no rume (h^{-1}); $\boldsymbol{DP}_{ALM}$: degradabilidade potencial (%); $\boldsymbol{a}_{ALM}$: fracción inmediatamente degradábel (%); $\boldsymbol{b}_{ALM}$: fracción insolúbel pero potencialmente degradábel (%); $\boldsymbol{c}_{ALM}$: velocidade de degradación ruminal da fracción b_{ALM} (h^{-1}); *s.e*: erro estándar do coeficiente da ecuación de regresión; *P:* significación (*** $P<0,001$; ** $P<0,01$; * $P<0,05$); R^2: coeficiente de determinación do modelo de calibración; SEC: erro estándar de calibración; 1-VR: coeficiente de determinación en validación cruzada; SECV: erro estándar de validación cruzada; CV: coeficiente de variación

4.5.2.2 Ecuacións NIRS

Os estatísticos de calibración e de validación cruzada das ecuacións NIRS de predición dos parámetros de degradabilidade da materia seca, da parede celular, da proteína bruta e do amidón da colección de ensilaxes de millo se mostran na Táboa 90. Todos os modelos se obtiveron utilizando SNV+D como pretratamento espectral para corrixir o efecto da dispersión da luz, sendo optimizados os modelos de calibración mediante a segunda derivada do espectro, coa excepción da estimación da velocidade de degradación da FND, onde foi utilizada a primeira derivada. O número de mostras anómalas eliminadas do conxunto de calibración respecto do número inicial de mostras oscilou entre 3,4 e 6,8% estando claramente por debaixo do valor máximo do 20% recomendado por Shenk e Westerhaus (1995a) no desenvolvemento de ecuacións de calibración NIRS. O comportamento preditivo das distintas ecuacións se describe a continuación.

Materia seca.- Os coeficientes de determinación ($1-VR$) e o erro de predición ($SECV$) das ecuacións NIRS para a estimación dos parámetros de degradabilidade ruminal da materia seca foron, respectivamente, para $\boldsymbol{a}_{\mathrm{MS}}$ 0,89 e ±2,19%, para $\boldsymbol{b}_{\mathrm{MS}}$ 0,74 e ±2,63%, para $\boldsymbol{c}_{\mathrm{MS}}$ 0,36 e ±0,0052 h^{-1}, para $\boldsymbol{DP}_{\mathrm{MS}}$ 0,63 e ±1,33% e para $\boldsymbol{DT}_{\mathrm{MS}}$ 0,85 e ±1,76%. Os valores dos estatísticos RPD_{vc} e RER_{vc} foron, respectivamente, de 2,4 e 12,6 para $\boldsymbol{a}_{\mathrm{MS}}$, de 2,0 e 12,1 para $\boldsymbol{b}_{\mathrm{MS}}$, de 1,0 e 4,0 para $\boldsymbol{c}_{\mathrm{MS}}$, de 1,6 e 8,7 para $\boldsymbol{DP}_{\mathrm{MS}}$ e de 2,5 e 16,6 para $\boldsymbol{DT}_{\mathrm{MS}}$. A relación entre $SECV$ e SEC para a estimación de $\boldsymbol{a}_{\mathrm{MS}}$, $\boldsymbol{b}_{\mathrm{MS}}$ e $\boldsymbol{DP}_{\mathrm{MS}}$ excedeu o valor máximo de 1,5 sinalado por Burns e Ciurczak (1992) como indicativo de calibracións NIRS robustas.

Atendendo ao criterio de Shenk *et al*. (2001) o axuste das ecuacións foi categorizado como de boa calidade ($1-VR$ entre 0,70 e 0,89) para a estimación de $\boldsymbol{a}_{\mathrm{MS}}$, $\boldsymbol{b}_{\mathrm{MS}}$ e $\boldsymbol{DT}_{\mathrm{MS}}$, sendo de mediocre calidade ($1-VR$ entre 0,50 e 0,69) para a estimación de $\boldsymbol{DP}_{\mathrm{MS}}$, mentres que a ecuación para a estimación de $\boldsymbol{c}_{\mathrm{MS}}$, cun valor de $1-VR$ inferior a 0,50 carecería de utilidade preditiva. Atendendo aos valores de RPD_{vc} en validación cruzada e seguindo os criterios de Williams (2001), as ecuacións de estimación de $\boldsymbol{a}_{\mathrm{MS}}$, $\boldsymbol{b}_{\mathrm{MS}}$ e $\boldsymbol{DT}_{\mathrm{MS}}$ cun valor de RPD_{vc} entre 2,5 e 3,0 permitirían realizar unha boa predición cuantitativa, avalada por valores de RER_{vc} superiores a 10. A ecuación de predición de $\boldsymbol{DP}_{\mathrm{MS}}$ só permitiría realizar unha predición cualitativa básica (valores altos e baixos) da

velocidade de degradación da materia seca, mentres que a ecuación NIRS de estimación de $\boldsymbol{c}_{MS}$ non tería utilidade preditiva.

A superioridade preditiva das ecuacións NIRS respecto das ecuacións empíricas para a estimación dos parámetros que describen a degradabilidade ruminal da materia seca das mostras de ensilaxe de millo se fai patente cando se comparan os estatísticos obtidos en validación cruzada. A porcentaxe de varianza explicada polas ecuacións empíricas se incrementou cando se utilizaban as ecuacións NIRS desde o 78% ao 89% para $\boldsymbol{a}_{MS}$, desde o 46% ao 74% para $\boldsymbol{b}_{MS}$, desde o 14% ao 63% para $\boldsymbol{DP}_{MS}$ e desde o 78% ao 85% para $\boldsymbol{DT}_{MS}$. En paralelo, o erro de estimación das ecuacións empíricas se reducía cando se aplicaban as ecuacións NIRS desde ±2,98 a ±2,19% para $\boldsymbol{a}_{MS}$, desde ±4,28 a ±2,63% para $\boldsymbol{b}_{MS}$, desde ±3,98 a ±1,33% para $\boldsymbol{DP}_{MS}$ e desde ±2,01 a ±1,76% para $\boldsymbol{DT}_{MS}$. A porcentaxe de redución do erro oscilou entre o 12% para $\boldsymbol{DT}_{MS}$ e o 67% para $\boldsymbol{DP}_{MS}$.

Parede celular.- A capacidade preditiva das ecuacións NIRS para estimar a degradabilidade da parede celular das mostras de ensilaxe de millo foi inferior á mostrada para a degradabilidade da materia seca, con valores de $1-VR$ e $SECV$ de, respectivamente, 0,57 e ±4,78% para $\boldsymbol{b}_{FND}$, de 0,24 e ±0,0047% para $\boldsymbol{c}_{FND}$ e de 0,54 e ±3,44% para $\boldsymbol{DT}_{FND}$. Os valores dos estatísticos RPD_{vc} e RER_{vc} foron, respectivamente, de 1,6 e 6,3 para $\boldsymbol{b}_{FND}$, de 1,0 e 2,0 para $\boldsymbol{c}_{FND}$ e de 1,4 e 5,3 para $\boldsymbol{DT}_{FND}$. A relación entre $SECV$ e SEC da ecuación de estimación de $\boldsymbol{b}_{FND}$, excedeu o valor de 1,5 sinalado por Burns e Ciurczak (1992) como indicativo de calibracións NIRS robustas.

O axuste das ecuacións mostrou unha mediocre calidade ($1-VR$ entre 0,50 e 0,69) para a estimación de $\boldsymbol{b}_{FND}$ e $\boldsymbol{DT}_{FND}$, mentres que a ecuación para a estimación de $\boldsymbol{c}_{FND}$ non acadou o umbral mínimo ($1-VR$ >0,50) para ser considerada de utilidade con propósitos preditivos (Shenk *et al*., 2001). Por outra banda, segundo o indicado por Williams (2001) os valores de RPD_{vc} mostrarían que a ecuación de estimación de $\boldsymbol{b}_{FND}$ permitiría realizar unicamente unha predición cualitativa básica (RPD_{vc} entre 1,50 e 2,0), distinguindo valores altos e baixos da fracción lentamente degradábel, mentres que a ecuación de predición de $\boldsymbol{DT}_{FND}$ non acadou o valor mínimo de 1,5 para ser de utilidade preditiva.

A técnica NIRS non permitiu estimar o valor da degradabilidade efectiva da parede celular de ensilaxes de millo, proporcionando unicamente a posibilidade de realizar predicións cualitativas básicas do valor da fracción lentamente degradábel.

Proteína bruta.- As ecuacións NIRS para a estimación dos parámetros de degradabilidade ruminal da PB da colección de mostras de ensilaxes de millo mostraron unha baixa capacidade preditiva, con valores de $1-VR$ e de $SECV$ de, respectivamente, 0,42 e ±3,91% para $\boldsymbol{a}_{\mathrm{PB}}$, de 0,27 e ±3,86% para $\boldsymbol{b}_{\mathrm{PB}}$, de 0,22 e ±0,0098 h^{-1} para $\boldsymbol{c}_{\mathrm{PB}}$, de 0,30 e ±1,79% para $\boldsymbol{DP}_{\mathrm{PB}}$ e de 0,59 e ±2,59% para $\boldsymbol{DT}_{\mathrm{PB}}$. Os valores dos estatísticos RPD_{vc} e RER_{vc} foron, respectivamente, de 1,4 e 6,4 para $\boldsymbol{a}_{\mathrm{PB}}$, de 1,2 e 5,8 para $\boldsymbol{b}_{\mathrm{PB}}$, de 1,0 e 5,0 para $\boldsymbol{c}_{\mathrm{PB}}$, de 1,2 e 5,3 para $\boldsymbol{DP}_{\mathrm{PB}}$ e de 1,6 e 5,4 para $\boldsymbol{DT}_{\mathrm{PB}}$. A relación entre $SECV$ e SEC para $\boldsymbol{DP}_{\mathrm{PB}}$ excedeu o valor máximo de 1,50 sinalado por Burns e Ciurczak (1992) como indicativo de calibracións NIRS robustas.

Atendendo aos criterios de Shenk *et al*. (2001) e de Williams (2001) baseados respectivamente no valor do coeficiente de determinación e do ratio RPD_{vc} en valoración cruzada, unicamente a ecuación para a predición de $\boldsymbol{DT}_{\mathrm{PB}}$ mostrou utilidade para realizar unha predición cualitativa básica ($1-VR$ entre 0,50 e 0,65 e RPD_{vc} entre 1,5 e 2,0) mentres que as ecuacións para a predición do resto dos parámetros, con valores de $1-VR$ inferiores a 0,50 e de RPD_{vc} inferiores a 1,50 non mostraron utilidade preditiva algunha.

A técnica NIRS permitiu realizar unha estimación en rangos cualitativos (valores alto, medio e baixo) do valor da degradabilidade efectiva da proteína bruta de ensilaxes de millo, pero non foi posíbel obter ecuacións de predición dos restantes parámetros de degradabilidade. Os deficientes resultados se atribúen, en parte, aos erros de determinación dos valores de referencia e á escasa variabilidade da colección de calibración.

Amidón.- Os valores do coeficiente de determinación $1-VR$ e do erro estándar de predición $SECV$ en validación cruzada das ecuacións NIRS para a estimación dos parámetros de degradabilidade ruminal do amidón de ensilaxes de millo foron, respectivamente, de 0,64 e ±3,97% para $\boldsymbol{a}_{\mathrm{ALM}}$, de 0,69 e ±3,42% para $\boldsymbol{b}_{\mathrm{ALM}}$, de 0,10 e ±0,0279 h^{-1} para $\boldsymbol{c}_{\mathrm{ALM}}$, de 0,32 e ±0,98% para $\boldsymbol{DP}_{\mathrm{ALM}}$ e de 0,59 e ±1,92% para $\boldsymbol{DT}_{\mathrm{ALM}}$. Os valores dos estatísticos RPD_{vc} e RER_{vc} foron, respectivamente, de 2,2 e 9,6 para $\boldsymbol{a}_{\mathrm{ALM}}$, de 2,3 e 9,6 para $\boldsymbol{b}_{\mathrm{ALM}}$, de 1,1 e 5,1 para $\boldsymbol{c}_{\mathrm{ALM}}$, de 1,5 e 7,5 para $\boldsymbol{DP}_{\mathrm{ALM}}$ e de 2,4 e 11,9 para $\boldsymbol{DT}_{\mathrm{ALM}}$. A relación entre $SECV$ e SEC das distintas ecuacións non excedeu en ningún caso o valor máximo de 1,50 sinalado por Burns e Ciurczak (1992) como indicativo de calibracións NIRS robustas.

Atendendo aos criterios de Shenk *et al*. (2001) baseados no valor do coeficiente de determinación en valoración cruzada, as ecuacións para a predición de $\boldsymbol{a}_{\text{ALM}}$, $\boldsymbol{b}_{\text{ALM}}$ e $\boldsymbol{DT}_{\text{ALM}}$ permitirían realizar unha predición cualitativa básica ($1-VR$ entre 0,50 e 0,65 e RPD_{vc} entre 1,5 e 2,0) mentres que as ecuacións para a predición de $\boldsymbol{c}_{\text{ALM}}$ e de $\boldsymbol{DP}_{\text{ALM}}$, con valores de $1-VR$ inferiores a 0,50 carecerían de utilidade preditiva. O valor do estatístico RPD_{vc}, situado no intervalo entre 2,0 e 2,5 e o do estatístico RER_{vc}, moi próximo ou superior ao valor límite de 10 serían sen embargo indicativos de que as ecuacións NIRS para a estimación de $\boldsymbol{a}_{\text{ALM}}$, $\boldsymbol{b}_{\text{ALM}}$ e $\boldsymbol{DT}_{\text{ALM}}$ poderían ser utilizadas para realizar unha predición cuantitativa de ditos valores (Williams, 2003 e Williams e Sobering, 1996). Por outra banda, Millmier *et al*. (2000) considera que os modelos de predición NIRS con valores de RER entre 4,0 e 8,0 mostran unha calidade da calibración mediocre, mentres que valores de RER superiores a 8,0 indican unha calidade de predición cuantitativa aceptábel.

A técnica NIRS mostra unha clara superioridade comparada co uso de ecuacións empíricas para estimar a degradabilidade do amidón de ensilaxes de millo, toda vez que mediante as ecuacións químicas non foi posíbel construír modelos de predición baseados na composición química das mostras para estimar o valor da degradabilidade efectiva nin das fraccións do amidón degradado inmediatamente e lentamente degradábel, mentres que as ecuacións NIRS permiten realizar unha estimación cualitativa de ditos valores con certa fiabilidade. Sen embargo, para a estimación dos valores da degradabilidade potencial e da velocidade de degradación ruminal do amidón non foi posíbel construír ecuacións NIRS con utilidade preditiva, o cal se atribúe, fundamentalmente, aos erros de determinación do método de referencia e ao relativamente escaso número de mostras que compuñan a colección de calibración.

Táboa 90.- Estatísticos de calibración e validación cruzada das ecuacións NIRS para estimación dos parámetros de degradabilidade ruminal *in situ* de ensilaxes de planta enteira de millo

Parámetro	Scatter	Tratamento matemático	Calibración										Validación cruzada			
			n	Outliers	T	Media	SD	Min	Max	Rango	R^2	SEC	1-VR	SECV	RPDvc	RERvc
Materia seca																
$\boldsymbol{a}_{MS}$	SNV+D	2,5,5,1	59	4	5	45,3	5,3	28,2	55,7	27,6	0,94	1,26	0,89	2,19	2,4	12,6
$\boldsymbol{b}_{MS}$	SNV+D	2,4,4,1	59	0	6	41,1	5,2	31,8	63,7	31,9	0,92	1,49	0,74	2,63	2,0	12,1
$\boldsymbol{c}_{MS}$	SNV+D	2,4,4,1	59	0	4	0,040	0,010	0,020	0,060	0,040	0,74	0,010	0,36	0,01	1,0	4,0
$\boldsymbol{DP}_{MS}$	SNV+D	2,5,5,1	59	0	6	85,8	2,2	78,7	90,2	11,6	0,90	0,70	0,63	1,33	1,6	8,7
$\boldsymbol{DT}_{MS\ (k=0,06)}$	SNV+D	2,10,5,1	59	0	3	61,1	4,5	40,9	70,1	29,2	0,90	1,44	0,85	1,76	2,5	16,6
Fibra neutro deterxente																
$\boldsymbol{a}_{FND}$	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
$\boldsymbol{b}_{FND}$ ($\boldsymbol{DP}_{FND}$)	SNV+D	2,4,4,1	59	0	6	73,1	7,5	59,3	89,2	29,9	0,89	2,42	0,57	4,78	1,6	6,3
$\boldsymbol{c}_{FND}$	SNV+D	1,4,4,1	59	0	1	0,030	0,010	0,020	0,040	0,020	0,38	0,010	0,24	0,01	1,0	2,0
$\boldsymbol{DT}_{FND\ (k=0,06)}$	SNV+D	2,8,4,1	59	0	1	28,8	5,0	18,1	36,3	18,2	0,71	2,71	0,54	3,44	1,4	5,3
Proteína bruta																
$\boldsymbol{a}_{PB}$	SNV+D	2,4,4,1	59	0	4	70,8	5,5	56,1	81,2	25,1	0,73	2,69	0,42	3,91	1,4	6,4
$\boldsymbol{b}_{PB}$	SNV+D	2,5,5,1	59	0	4	18,1	4,5	8,2	30,7	22,5	0,59	2,73	0,27	3,86	1,2	5,8
$\boldsymbol{c}_{PB}$	SNV+D	2,4,4,1	59	0	1	0,030	0,010	0,010	0,060	0,050	0,28	0,010	0,22	0,01	1,0	5,0
$\boldsymbol{DP}_{PB}$	SNV+D	2,6,4,1	59	0	3	88,8	2,2	83,9	93,4	9,5	0,80	0,97	0,30	1,79	1,2	5,3
$\boldsymbol{DT}_{PB\ (k=0,06)}$	SNV+D	1,4,4,1	59	0	4	76,8	4,0	67,7	84,4	16,7	0,79	1,83	0,59	2,59	1,6	6,4
Amidón																
$\boldsymbol{a}_{ALM}$	SNV+D	2,10,5,1	59	4	3	77,7	8,7	53,4	91,7	38,3	0,76	3,19	0,64	3,97	2,2	9,6
$\boldsymbol{b}_{ALM}$	SNV+D	2,10,10,1	59	4	7	20,6	7,8	6,9	39,7	32,8	0,87	2,74	0,69	3,42	2,3	9,6
$\boldsymbol{c}_{ALM}$	SNV+D	2,5,5,1	59	2	1	0,118	0,032	0,060	0,210	0,151	0,21	0,028	0,10	0,03	1,1	5,1
$\boldsymbol{DP}_{ALM}$	SNV+D	2,5,5,1	59	2	3	98,2	1,5	92,5	99,9	7,4	0,54	0,81	0,32	0,98	1,5	7,5
$\boldsymbol{DT}_{ALM\ (k=0,06)}$	SNV+D	2,10,10,1	59	3	5	90,9	4,6	74,2	96,7	22,5	0,78	1,54	0,59	1,92	2,4	11,7

$\boldsymbol{a}$: fracción inmediatamente degradábel (%); $\boldsymbol{b}$: fracción insolúbel pero potencialmente degradábel (%); $\boldsymbol{c}$: velocidade de degradación ruminal da fracción b (h^{-1}); $\boldsymbol{DP}$: degradabilidade potencial (%); $\boldsymbol{DT}$: degradabilidade teórica (%); k: taxa fraccional de paso no rume (h^{-1}); SNV+D: standard normal variate+detrend; n: número de observacións; Outliers: número de mostras anómalas eliminadas; T: número de factores da regresión; SD: desviación estándar; Min: valor mínimo; Max: valor máximo; SEC: erro estándar de calibración; R^2: coeficiente de determinación do modelo de calibración; SEC: erro estándar de calibración; 1-VR: coeficiente de determinación en validación cruzada; SECV: erro estándar de validación cruzada; RPDvc: ratio entre a desviación estándar e o erro de predición en validación cruzada; RERvc: ratio entre rango de valores e o erro de predición en validación cruzada; MS: materia seca; FND: fibra neutro deterxente; PB: proteína bruta; ALM: amidón

4.6 Modelos preditivos para a estimación de parámetros fermentativos de ensilaxes

4.6.1 Modelo xeral

Valores medios da colección

O total da colección de mostras de ensilaxes das que se dispuña das analíticas dos parámetros fermentativos determinados por métodos de referencia foi de 1043, das cales 325 eran ensilaxes de herba e cultivos anuais de inverno e 718 eran ensilaxes de planta enteira de millo, sendo seleccionados finalmente 1006 mostras para a construción das calibracións NIRS.

Na Táboa 91 se mostran os valores medios, a desviación estándar, o coeficiente de variación e o rango de valores de pH, ácidos láctico e acético e os contidos en N solúbel e N amoniacal do grupo de calibración (n= 770) e validación externa (n= 236), así como os estatísticos de calibración e validación cruzada e externa das ecuacións. Os valores medios (e rango de variación) dos diferentes parámetros nos conxuntos de calibración e de validación externa foron, respectivamente, pH: 3,98 (3,40 a 5,70) e 3,94 (3,19 a 5,40), LACT (%MS): 4,52 (0,10 a 18,31) e 4,54 (0,01 a 16,29), ACET (%MS): 1,93 (0,02 a 8,14) e 1,85 (0,10 a 8,61), N-Solúbel (%N total): 48,0 (15,7 a 95,8) e 48,62 (18,7 a 76,4) e N-NH_3 (%N total): 7,8 (1,4 a 39,1) e 7,4 (2,1 a 14,9).

O coeficiente de variación dos valores de pH foi do 9,7%, sendo considerabelmente máis alto para os produtos da fermentación, con valores de CV de 67,8% para LACT, de 72,8% para ACET, de 21,9% para N-solúbel e de 52,0% para N-NH_3, reflectindo a diferente intensidade da fermentación na colección de mostras de ensilaxes de herba e de millo como resposta á diversidade xenotípica, de estados de madurez, tratamentos post-colleita e condicións ambientais.

Ecuacións NIRS para a predición de parámetros fermentativos

Os modelos de predición obtivéronse con SNV+D como pretratamento espectral para corrixir o efecto da dispersión da luz, sendo optimizados polo uso da segunda derivada do espectro para tódolos parámetros coa excepción do pH, no que o uso da primeira derivada proporcionou mellores resultados. O número de *outliers* eliminados do conxunto de calibración respecto do número inicial de mostras oscilou entre 5,5 e 6,4%,

estando estas porcentaxes por debaixo do valor máximo do 20% recomendado por Shenk e Westerhaus (1995a) no desenvolvemento de ecuacións de calibración NIRS.

Os coeficientes de determinación ($1-VR$) e os erros de predición ($SECV$) no proceso de validación cruzada foron, respectivamente, de 0,90 e ±0,06 para pH, de 0,90 e ±0,88% para LACT, de 0,87 e ±0,36% para ACET, de 0,85 e ±3,75% para N-Solúbel e de 0,86 e ±0,76% para N-NH_3. O ratio $SECV/SEC$ oscilou entre 1,09 e 1,17 o que o sitúa dentro do intervalo entre 0,5 e 1,5 sinalado por Burns e Ciurczak (1992) como indicativo de calibracións NIRS robustas.

Segundo o criterio definido por Shenk *et al*. (2001) para xulgar a calidade do axuste das ecuacións en función do valor do coeficiente de determinación en validación cruzada, esta foi excelente ($1-VR$ ≥0,90) para a predición do valor de pH e do contido de LACT. As ecuacións para a predición do resto dos parámetros mostrou, a este respecto, un axuste categorizado como bo ($1-VR$ entre 0,70 e 0,89) estando o valor do coeficiente de determinación en valores moi próximos ao límite superior. Por outra banda, atendendo aos criterios de Williams (2014) e de Williams e Sobering (1996) para xulgar a calidade preditiva das ecuacións en base aos valores de RPD_{vc} e RER_{vc} en validación cruzada, aquela foi boa (RPD_{vc}>3 e RER_{ve}>10) para tódolos parámetros agás para o contido en N-Solúbel, que obtivo un valor de RPD_{vc} lixeiramente inferior a 3,0 pero cun alto valor de RER_{vc} que, ao igual que para o resto dos parámetros, indicaría que as ecuacións NIRS permitirían unha predición cuantitativa da calidade fermentativa atendendo aos resultados neste proceso de validación.

A representación gráfica dos valores de referencia e dos valores preditos cando se aplican os modelos de calibración NIRS sobre un conxunto de mostras independentes se mostra na Figura 22. Os valores do coeficiente de determinación r^2 e do erro de predición SEP obtidos no proceso de validación externa foron, respectivamente, de 0,83 e ±0,16 para pH, de 0,87 e ±1,39 % para LACT, de 0,71 e ±0,89 % para ACET, de 0,79 e ±5,38% para N-Solúbel e de 0,51 e ±2,27% para N-NH_3. Os correspondentes valores de RPD_{ve} e de RER_{ve} para estes parámetros foron, respectivamente, de 2,0 e 13,6 para pH, de 2,2 e 11,7 para LACT, de 1,6 e 9,6 para ACET, de 1,9 e 10,7 para N-Solúbel e de 1,1 e 5,6 para N-NH_3, indicando unha notábel perda de precisión das ecuacións cando se aplican ao conxunto de validación externa.

Atendendo aos criterios de Williams (2014) e de Williams e Sobering (1996) a calidade preditiva dos modelos de calibración en base ao valores de RPD_{ve} e RER_{ve} en validación externa foi mediocre (RPD_{ve} entre 2,0 e 2,5) para a estimación dos valores de pH e LACT, permitindo unha predición cualitativa básica, se ben os valores de RER_{ve} para estes parámetros excede o valor mínimo de 10 suxerindo utilidade das ecuacións para realizar unha predición cuantitativa de moderada fiabilidade. As ecuacións de estimación de ACET e de N-Solúbel, con valores de RPD_{ve} no intervalo entre 1,50 e 2,0 e de RER_{ve} >10 terían certa utilidade para clasificar en rangos de calidade (alto, medio, baixo) ditos parámetros, mentres que a ecuación de predición de N-NH_3, non sería de utilidade para a predición fiábel deste parámetro en colección de mostras independentes.

Os criterios establecidos por Shenk *et al*. (2001) e Shenk e Westerhaus (1991b) para xulgar acerca da súa robustez e fiabilidade en análises de rutina sobre mostras externas, (r^2 ≥0,60; $bias$ =±0,60 SEC; SEP_c ≤1,30 SEC e pendente entre 0,9 e 1,1) non se cumpriron na súa totalidade para ningunha das ecuacións, indicando que no conxunto de calibración non estaba incorporada toda a variabilidade existente no conxunto de validación externa. Se ben para as ecuacións de predición de pH, LACT, ACET e N-Solúbel os valores de r^2 e $bias$ estaban dentro dos límites de calidade indicados, unicamente para as ecuacións de estimación dos dous primeiros parámetros se cumpría que o valor da pendente estivese dentro do intervalo requirido e en tódolos casos o valor do erro de predición SEP_c excedía o límite necesario para considerar robusta e fiábel a ecuación aplicada a mostras externas.

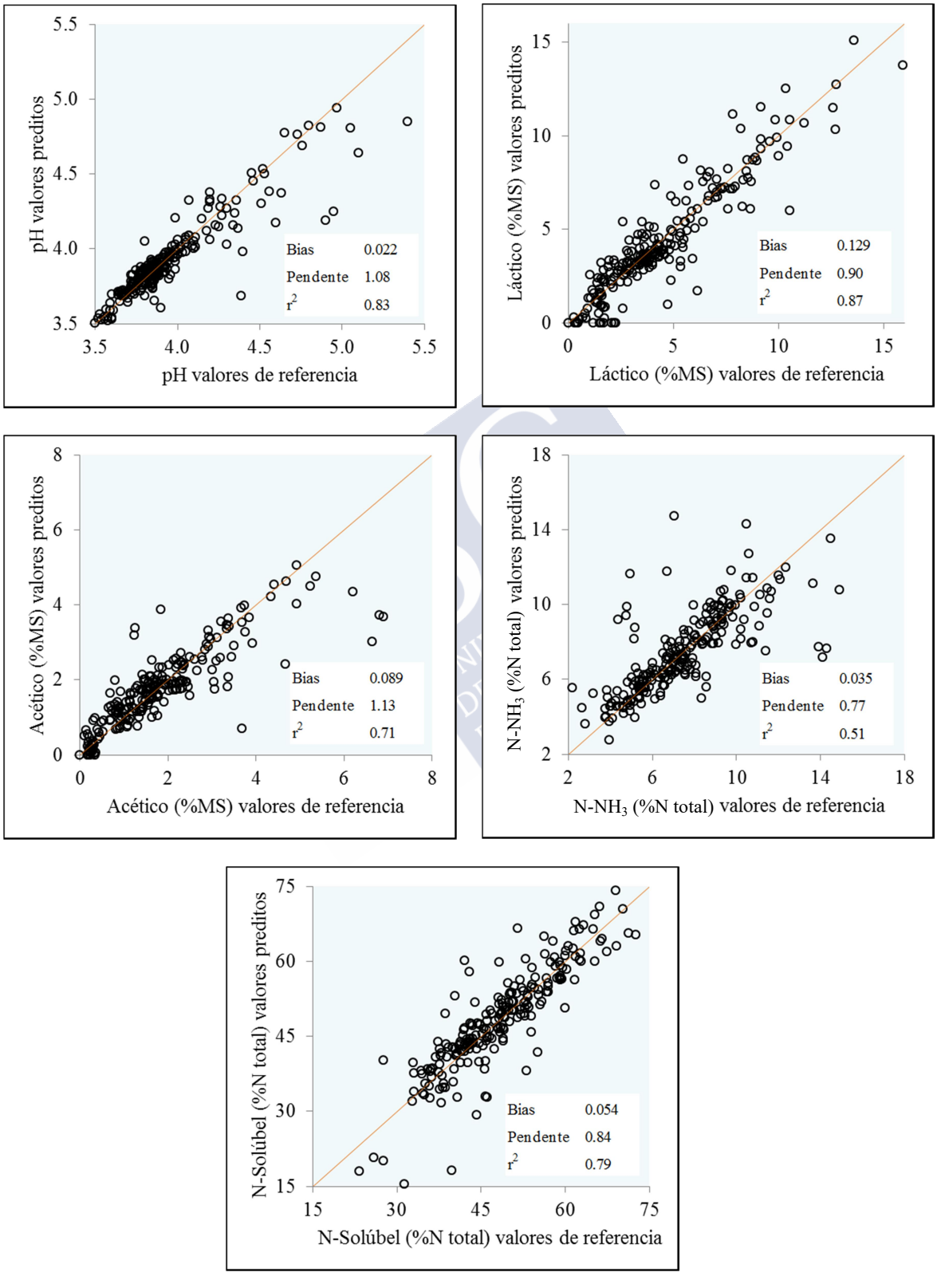
Táboa 91.- Estatísticos de calibración e validación das ecuacións universais NIRS para a predición dos parámetros fermentativos de ensilaxes de herba e de planta enteira de millo

Parámetro	Scatter	Tratamento matemático	Calibración										Validación cruzada			
			n	Outliers	T	Media	SD	Min	Max	Rango	R^2	SEC	1-VR	SECV	RPDvc	RERvc
pH	SNV+D	1,10,5,1	770	49	15	3,98	0,39	3,40	5,70	2,30	0,93	0,05	0,90	0,06	6,1	36,1
LACT	SNV+D	2,10,5,1	770	44	14	4,52	3,06	0,10	18,31	18,21	0,92	0,80	0,90	0,88	3,5	20,6
ACET	SNV+D	2,10,5,1	770	44	15	1,93	1,39	0,02	8,14	8,12	0,91	0,31	0,87	0,36	3,9	22,6
N-Solúbel	SNV+D	2,10,10,1	770	42	12	48,1	10,5	15,7	95,8	80,1	0,87	3,43	0,85	3,75	2,8	21,3
$N\text{-}NH_3$	SNV+D	2,10,10,1	770	45	14	7,87	4,09	1,39	39,1	37,7	0,89	0,68	0,86	0,76	5,4	49,9

Parámetro	Validación externa															
	n	Outliers	Media	SD	Min	Max	Rango	r^2	SEP	SEPc	Bias	Pend.	RPDve	RERve	GH	NH
pH	236	11	3,94	0,32	3,19	5,40	2,21	0,83	0,16	0,16	0,02	1,08	2,0	13,6	1,16	0,33
LACT	236	11	4,54	3,00	0,01	16,2	16,3	0,87	1,39	1,36	0,13	0,90	2,2	11,7	1,16	0,33
ACET	236	11	1,85	1,43	0,10	8,61	8,51	0,71	0,89	0,89	0,09	1,13	1,6	9,6	1,16	0,33
N-Solúbel	236	11	48,6	10,1	18,8	76,5	57,7	0,79	5,38	5,39	0,05	0,84	1,9	10,7	1,16	0,33
$N\text{-}NH_3$	236	11	7,44	2,39	2,18	14,9	12,7	0,51	2,27	2,27	0,04	0,77	1,1	5,6	1,16	0,33

SNV+D: standard normal variate+detrend; n: número de observacións; Outliers: número de mostras anómalas eliminadas; T: número de factores da regresión; SD: desviación estándar; Min: valor mínimo; Max: valor máximo; SEC: erro estándar de calibración; R^2: coeficiente de determinación do modelo de calibración; SEC: erro estándar de calibración; 1-VR: coeficiente de determinación en validación cruzada; SECV: erro estándar de validación cruzada; RPDvc: ratio entre a desviación estándar e o erro de predición en validación cruzada; RERvc: ratio entre rango de valores e o erro de predición en validación cruzada; r^2: coeficiente de determinación en validación externa; SEP: erro estándar de predición; SEPc: erro estándar de predición corrixido por bias; Bias: diferencia media entre os valores observados e os preditos pola ecuación; Pend: pendente da regresión; RPDve: ratio entre a desviación estándar e o erro de predición en validación externa; RERve: ratio entre rango de valores e o erro de predición en validación externa; GH e NH: distancias de Mahalanobis; MS: materia seca; LACT: ácido láctico (%MS); ACET: ácido acético (%MS); N: nitróxeno; N-Solúbel: N solúbel (% N total); $N\text{-}NH_3$: N amoniacal (% N total)

Figura 22.- Plot de valores de parámetros fermentativos medidos polos métodos de referencia e de valores preditos polas ecuacións universais NIRS para mostras de ensilaxes de herba e de planta enteira de millo



4.6.2 Ensilaxes de herba

Valores medios da colección

A colección inicial estaba formada por 325 mostras de ensilaxes de herba das que se dispuña das analíticas dos parámetros fermentativos determinados por métodos de referencia. Estaba composta na súa maior parte por ensilaxes de herba de pradeira (n=274) e ensilaxes de cultivos de inverno incluíndo mesturas de trevos anuais con raigrás italiano e híbrido, así como de cultivos de triticale, de chícharo forraxeiro e as súas mesturas (n=51). Foron seleccionadas finalmente 311 mostras para a construción das calibracións NIRS para a predición dos parámetros fermentativos das ensilaxes, representando unha ampla variabilidade en canto a xenotipos, ciclos de crecemento, estados de madurez, tratamentos post-colleita, localidades e condicións ambientais para este tipo de forraxe.

Na Táboa 92 se mostran os valores medios, a desviación estándar, o coeficiente de variación e o rango de valores de pH, ácidos láctico e acético e os contidos en N solúbel e N amoniacal do grupo de calibración (n= 246) e validación externa (n= 65), así como os estatísticos de calibración e validación cruzada e externa das ecuacións. Os valores medios (e rango de variación) dos diferentes parámetros nos conxuntos de calibración e de validación externa foron, respectivamente, pH: 4,37 (3,50 a 5,70) e 3,45 (3,19 a 5,66), LACT (%MS): 5,91 (0,0 a 18,3) e 5,82 (0,31 a 16,2), ACET (%MS): 2,83 (0,02 a 8,14) e 2,82 (0,0 a 8,77), N-Solúbel (%N total): 46,8 (15,7 a 85,1) e 45,7 (18,8 a 69,0) e N-NH_3 (%N total): 10,2 (1,3 a 39,1) e 9,38 (2,1 a 32,7). Os valores do coeficiente de variación no conxunto de calibración foron de 10,5% para pH, 65,5% para LACT, de 62,9% para ACET, de 23,5% para N-Solúbel e de 58,3% para N-NH_3, reproducindo de forma aproximada a variabilidade observada para o total da colección de ensilaxes de herba e de millo.

Ecuacións NIRS para a predición de parámetros fermentativos

Ao igual que acontecera na construción de ecuacións para o conxunto de ensilaxes de herba e de millo, os modelos de predición de parámetros fermentativos de ensilaxes de herba se obtiveron utilizando o método SNV+D como pretratamento espectral e mediante a segunda derivada do espectro para tódolos parámetros coa excepción do pH, no que se utilizou a primeira derivada con mellor resultado. O número de mostras anómalas eliminadas do conxunto de calibración respecto do número inicial de mostras

oscilou entre 3,7 e 5,7%, estando estas porcentaxes por debaixo do valor máximo do 20% recomendado por Shenk e Westerhaus (1995a) no desenvolvemento de ecuacións de calibración NIRS.

Os coeficientes de determinación ($1-VR$) e os erros de predición ($SECV$) no proceso de validación cruzada foron, respectivamente, de 0,86 e ±0,17 para pH, de 0,85 e ±1,49% para LACT, de 0,86 e ±0,64% para ACET, de 0,81 e ±4,44% para N-Solúbel e de 0,85 e ±2,02% para N-NH_3. O ratio $SECV/SEC$ oscilou entre 1,02 e 1,26 o que o sitúa dentro do intervalo entre 0,5 e 1,5 sinalado por Burns e Ciurczak (1992) como indicativo de calibracións NIRS robustas.

Segundo o criterio definido por Shenk *et al*. (2001) para xulgar a calidade do axuste das ecuacións en función do valor do coeficiente de determinación en validación cruzada, esta foi considerada como boa ($1-VR$ entre 0,70 e 0,89) en tódolos casos, estando dito valor próximo ao límite superior deste intervalo para todos os parámetros. Por outra banda, atendendo aos criterios de Williams (2014) e de Williams e Sobering (1996) para xulgar a calidade preditiva das ecuacións en base aos valores de RPD_{vc} e RER_{vc} en validación cruzada, aquela foi boa (RPD_{vc} >3 e RER_{vc} >10) para a estimación de N-NH_3 e aceptábel (RPD_{vc} entre 2,5 e 3,0 e RER_{vc} >10) para os restantes parámetros, o que indicaría que as ecuacións NIRS permitirían unha predición cuantitativa da calidade fermentativa atendendo aos resultados neste proceso de validación.

A representación gráfica dos valores de referencia e dos valores preditos cando se aplican os modelos de calibración NIRS sobre un conxunto de mostras independentes se mostra na Figura 23. Os valores do coeficiente de determinación r^2 e do erro de predición SEP obtidos no proceso de validación externa foron, respectivamente, de 0,84 e ±0,20 para pH, de 0,89 e ±1,36% para LACT, de 0,89 e ±0,81% para ACET, de 0,88 e ±3,74% para N-Solúbel e de 0,86 e ±1,85% para N-NH_3. Os correspondentes valores de RPD_{ve} e de RER_{ve} para estes parámetros foron, respectivamente, de 2,5 e 12,4 para pH, de 3,0 e 11,7 para LACT, de 2,7 e 10,9 para ACET, de 2,9 e 13,4 para N-Solúbel e de 2,6 e 16,6 para N-NH_3, o que indica que cando as ecuacións de predición dos distintos parámetros se aplican a un conxunto de validación externa se mantén un bo axuste dos modelos cunha reducida perda na precisión das estimacións. Por outra parte, considerando os criterios establecidos por Windham *et al*. (1989), o valor do erro de predición SEP das ecuacións obtidas para estimar o contido en LACT, N solúbel e N-NH_3 foi ≤ 2 veces o valor do erro estándar do método de referencia, indicativo de que as

ecuacións NIRS serían aceptábeis para a predición de ditos parámetros. No caso dos modelos de predición do pH (SEL=±0,07; SEP=±0,20) e o contido en ácido acético (SEL=±0,32; SEP=±0,81), os valores do SEP superan lixeiramente o limite máximo recomendado.

Atendendo aos criterios de Williams (2014) e de Williams e Sobering (1996) a calidade preditiva dos modelos de calibración en base ao valores de RPD_{ve} e RER_{ve} en validación externa foi boa (RPD_{ve} ≥3,0) para a estimación dos valores de LACT e aceptábel (RPD_{ve} entre 2,5 e 3,0) para a estimación dos restantes parámetros, tendo sempre as ecuacións un valor de RER_{ve} superior ao valor mínimo de 10, o que suxire que todas as ecuacións serían de utilidade para realizar unha predición cuantitativa das características fermentativas das ensilaxes de herba.

O cumprimento das condicións establecidas por Shenk *et al.* (2001) e Shenk e Westerhaus (1991b) en validación externa (r^2 ≥0,60; $bias$ =±0,60 SEC; SEP_c ≤1,30 SEC e pendente entre 0,9 e 1,1) confirman que as ecuacións de predición son suficientemente fiábeis para ser utilizadas en rutinas analíticas sobre mostras independentes. Os estatísticos das diferentes ecuacións NIRS obtidas no presente traballo para a predición da calidade fermentativa de ensilaxes de herba estiveron dentro dos intervalos indicados, mostrando a súa robustez e aplicación para a análise fermentativa de mostras de ensilaxes de herba.

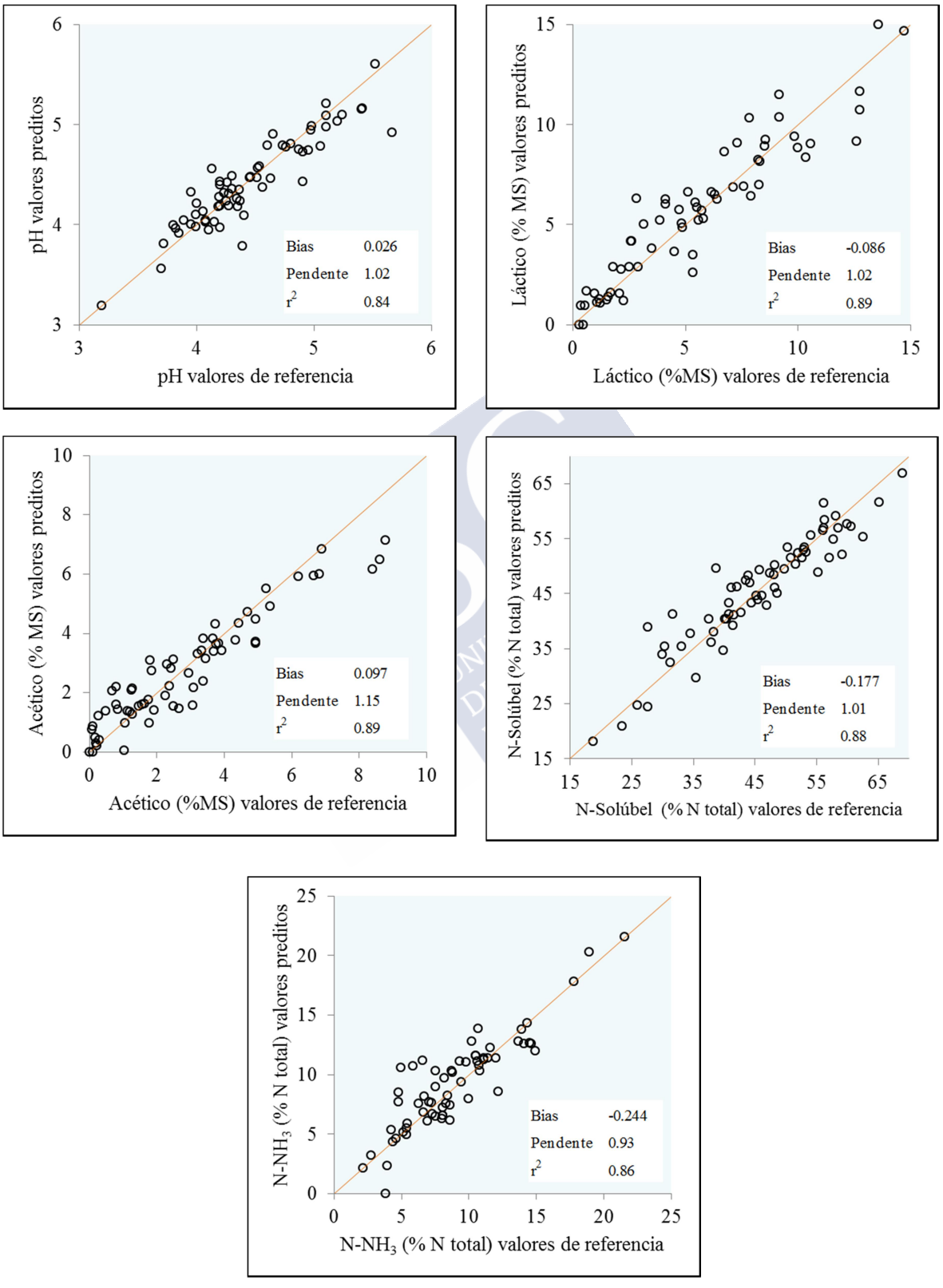
Táboa 92.- Estatísticos de calibración e validación das ecuacións NIRS para a predición dos parámetros fermentativos de ensilaxes de herba

Parámetro	Scatter	Tratamento matemático	Calibración									Validación cruzada			
			n	Outliers	T	Media	SD	Min	Max	Rango	R^2	SEC	1-VR	SECV	RPDvc	RERvc
pH	SNV+D	1,10,5,1	246	12	9	4,37	0,46	3,50	5,70	2,20	0,88	0,15	0,86	0,17	2,7	12,9
LACT	SNV+D	2,10,5,1	246	9	5	5,91	3,87	0,00	18,3	18,3	0,86	1,46	0,85	1,49	2,6	12,3
ACET	SNV+D	2,10,5,1	246	14	8	2,83	1,78	0,02	8,14	8,12	0,88	0,60	0,86	0,64	2,8	12,8
N-Solúbel	SNV+D	2,10,10,1	246	11	9	46,8	11,0	15,7	85,1	69,3	0,86	3,80	0,81	4,44	2,5	15,6
$N\text{-}NH_3$	SNV+D	2,10,10,1	246	14	12	10,2	5,95	1,39	39,1	37,7	0,91	1,60	0,85	2,02	3,0	18,7

Parámetro	Validación externa															
	n	Outliers	Media	SD	Min	Max	Rango	r^2	SEP	SEPc	Bias	Pend,	RPDve	RERve	GH	NH
pH	65	0	4,45	0,50	3,19	5,66	2,47	0,84	0,20	0,20	0,03	1,02	2,5	12,4	1,18	0,43
LACT	65	0	5,82	4,07	0,31	16,2	16,0	0,89	1,36	1,37	-0,09	1,02	3,0	11,7	1,18	0,43
ACET	65	0	2,82	2,22	0,00	8,77	8,77	0,89	0,81	0,80	0,10	1,15	2,7	10,9	1,18	0,43
N-Solúbel	65	0	45,7	10,8	18,8	69,0	50,2	0,88	3,74	3,76	-0,18	1,01	2,9	13,4	1,18	0,43
$N\text{-}NH_3$	65	0	9,38	4,86	2,18	32,7	30,5	0,86	1,85	1,84	-0,24	0,93	2,6	16,6	1,18	0,43

SNV+D: standard normal variate+detrend; n: número de observacións; Outliers: número de mostras anómalas eliminadas; T: número de factores da regresión; SD: desviación estándar; Min: valor mínimo; Max: valor máximo; SEC: erro estándar de calibración; R^2: coeficiente de determinación do modelo de calibración; SEC: erro estándar de calibración; 1-VR: coeficiente de determinación en validación cruzada; SECV: erro estándar de validación cruzada; RPDvc: ratio entre a desviación estándar e o erro de predición en validación cruzada; RERvc: ratio entre rango de valores e o erro de predición en validación cruzada; r^2: coeficiente de determinación en validación externa; SEP: erro estándar de predición; SEPc: erro estándar de predición corrixido por bias; Bias: diferencia media entre os valores observados e os preditos pola ecuación; Pend: pendente da regresión; RPDve: ratio entre a desviación estándar e o erro de predición en validación externa; RERve: ratio entre rango de valores e o erro de predición en validación externa; GH e NH: distancias de Mahalanobis; MS: materia seca; LACT: ácido láctico (%MS); ACET: ácido acético (%MS); N: nitróxeno; N-Solúbel: N solúbel (% N total); $N\text{-}NH_3$: N amoniacal (% N total)

Figura 23.- Plot de valores de parámetros fermentativos medidos polos métodos de referencia e de valores preditos polas ecuacións NIRS para mostras de ensilaxes de herba



4.6.3 Ensilaxes de millo

Valores medios da colección

Das 718 mostras de ensilaxes de planta enteira de millo analizadas por métodos de referencia para determinar a súa calidade fermentativa se seleccionaron finalmente 695 mostras na construción das calibracións NIRS para a estimación dos valores de pH, concentración de ácidos láctico e acético e de etanol, así como dos valores de N solúbel e N amoniacal. As mostras foron divididas nos grupos de calibración (n= 524) e de validación externa (n=171), mostrándose na Táboa 93 os respectivos valores medios, desviación estándar e rango de variación dos diferentes parámetros fermentativos, así como os estatísticos de calibración e validación cruzada e externa das ecuacións de predición.

As características de ambos grupos de calibración e validación externa mostraron unha elevada variabilidade para todos os parámetros, indicando a alta heteroxeneidade da calidade fermentativa das mostras. Os valores medios (e rango de variación) dos grupos foron, respectivamente, para pH 3,80 (3,40 a 4,70) e 3,81 (3,49 a 4,11), para LACT (%MS) 3,87 (0,0 a 13,0) e 3,94 (0,0 a 11,2), para ACET (%MS) 1,50 (0,14 a 3,86) e 1,48 (0,14 a 4,68), para EtOH (%MS) 1,17 (0,0 a 5,62) e 1,19 (0,11 a 3,14), para N-Solúbel (%N total) 48,7 (23,0 a 95,8) e 49,4 (32,8 a 76,5) e para N-NH_3 (%N total) 6,77 (0,0 a 12,8) e 7,05 (2,67 a 12,4).

Os valores do coeficiente de variación da colección de ensilaxes de millo foron 3,8% para pH, 60,3% para LACT, 58,6% para ACET, 62,2% para N-Solúbel e de 21,1% para N-NH_3. Comparando estes valores cos observados na colección de ensilaxes de herba, se evidencia unha menor variabilidade das mostras de ensilaxes de millo para o valor de pH e os contidos en ACET e N-NH_3, maior no contido en N-Solúbel e aproximadamente igual para as concentracións de LACT.

Ecuacións NIRS para a predición de parámetros fermentativos

O pretratamento espectral utilizado co grupo de ensilaxes de millo foi de tipo SNV+D coa segunda derivada do espectro para a construción das ecuacións de calibración de tódolos parámetros. O número de mostras eliminadas como anómalas, respecto ao número inicial, oscilou entre 2,3 e 4,4 % para os diferentes modelos.

Os valores do coeficiente de determinación ($1 - VR$) e do erro de predición ($SECV$) no proceso de validación cruzada foron, respectivamente, de 0,89 e ±0,04 para pH, de 0,93 e ±0,60% para LACT, de 0,86 e ±0,32% para ACET, de 0,73 e ±0,33% para EtOH, de 0,92 e ±2,93% para N-Solúbel e de 0,90 e ±0,65% para N-NH_3. O ratio $SECV/SEC$ oscilou entre 1,08 e 1,14 o que o sitúa dentro do intervalo sinalado por Burns e Ciurczak (1992) como indicativo de calibracións NIRS robustas.

Atendendo ao criterio sinalado por Shenk *et al.* (2001) o valor do coeficiente de determinación no proceso de validación cruzada indica a calidade da calibración obtida. Así, as ecuacións para a estimación de LACT, N solúbel e N-NH_3 con valores de $1 - VR$ ≥0,90 son consideradas excelentes, mentres que para pH, ACET e EtOH, con valores de $1 - VR$ superiores a 0,70, as ecuacións se categorizan como boas, sendo todas elas aptas para análise cuantitativa. A calidade preditiva dos modelos de predición NIRS en base aos valores de RPD_{vc} e RER_{vc} en validación cruzada, segundo os criterios de Williams (2014) e Williams e Sobering (1996), foi boa (RPD_{vc} >3 e RER_{vc} >10) para pH, LACT, N-Solúbel e N-NH_3, permitindo realizar predicións cuantitativas. A ecuación para a estimación do contido en ACET posúe unha calidade aceptábel (RPD_{vc} entre 2,5 e 3,0), permitindo unha predición cualitativa en rangos, mentres que a predición de EtOH sería de calidade mediocre (RPD_{vc} entre 2,0 e 2,5).

A representación gráfica dos valores de referencia e dos valores estimados cando se aplican os modelos de predición NIRS sobre un conxunto de mostras independentes se mostra na Figura 24. Os valores de r^2 e do erro de predición SEP foron, respectivamente, de 0,84 e ±0,05 para pH, de 0,92 e ±0,65 %MS para LACT, de 0,84 e ±0,35 %MS para ACET, de 0,81 e ±0,29 %MS para EtOH, de 0,91 e ± 2,98 %N total para N solúbel e de 0,87 e ±0,70 %N total para N-NH_3, indicando un aceptábel axuste e unha moderada perda de precisión dos modelos de calibración cando se aplican sobre o conxunto de mostras independentes. Atendendo os criterios establecidos por Windham *et al.* (1989), o valor do erro de predición SEP dos modelos desenvoltos para estimar o pH e o contido en LACT, EtOH, N-Solúbel e N-NH_3 foi ≤ 2 veces o valor do SEL, o cal indica que as ecuacións NIRS serían aceptábeis para a predición de ditos parámetros. No caso da ecuación de calibración do contido en ácido acético (SEL= ±0,17; SEP= ±0,35), o valor do SEP supera lixeiramente o valor máximo recomendado.

Os valores dos estatísticos RPD_{ve} e RER_{ve} en validación externa foron, respectivamente, de 2,5 e 11,7 para pH, de 3,5 e 17,2 para LACT, de 2,5 e 12,9 para ACET, de 2,3 e 10,5 para EtOH, de 3,3 e 14,7 para N-Solúbel e de 2,8 e 13,8 para N-NH_3. Atendendo aos criterios indicados por Williams (2014) e Williams e Sobering (1996) para xulgar a calidade preditiva dos modelos NIRS en base ao valores de RPD_{ve} e RER_{ve} en validación externa, as ecuacións de predición dos contidos en LACT e N-Solúbel posúen unha boa capacidade preditiva cuantitativa ($RPD_{ve} \geq 3{,}0$), mentres que para o contido en ACET e N-NH_3 as ecuacións presentan unha capacidade aceptábel (RPD_{ve} entre 2,5 e 3,0), o que permitiría unha predición cuantitativa en rangos. As ecuacións de predición para os restantes parámetros (pH e EtOH) serían de calidade mediocre (RPD_{ve} entre 2,0 e 2,5), permitindo unha clasificación básica de valores (altos, medios e baixos).

Sen embargo, os valores do estatístico RER_{ve} en validación externa, superior a 10 para tódolos modelos, suxiren a utilidade destas ecuacións para realizar predicións cuantitativas, o que se ve reforzado polo axuste dos estatísticos das ecuacións NIRS aos criterios de Shenk *et al*. (2001) e de Shenk e Westerhaus (1991b), para valorar a robustez e fiabilidade das ecuacións en análises de rutina sobre mostras externas. Estes criterios indican valores límite de $r^2 \geq 0{,}60$; de $bias = \pm 0{,}60\ SEC$; de $SEP_c \leq 1{,}30\ SEC$ e do valor da pendente entre 0,9 e 1,1 estando os respectivos valores das ecuacións NIRS obtidas para os diferentes parámetros fermentativos dentro dos intervalos recomendados o que permitiría a utilización das ecuacións de calibración para a predición en conxuntos de mostras independentes.

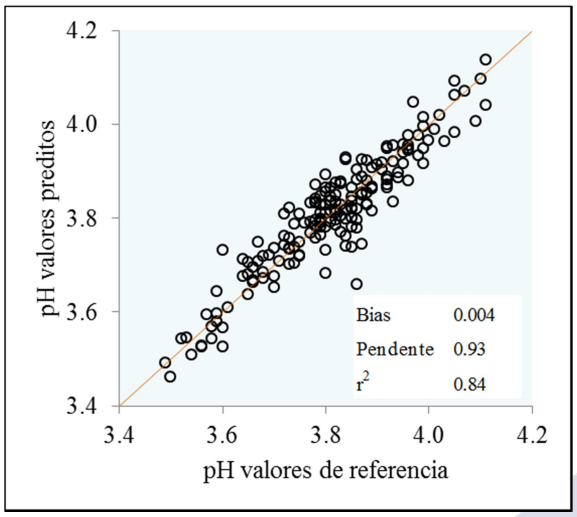
Táboa 93.- Estatísticos de calibración e validación das ecuacións NIRS para a predición dos parámetros fermentativos de ensilaxes de planta enteira de millo

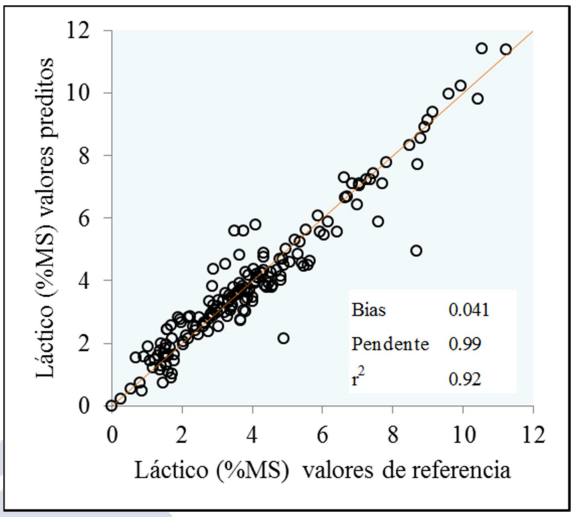
Parámetro	Scatter	Tratamento matemático	Calibración										Validación cruzada			
			n	Outliers	T	Media	SD	Min	Max	Rango	R^2	SEC	1-VR	SECV	RPDvc	RERvc
pH	SNV + D	2,10,10,1	524	22	14	3,80	0,15	3,40	4,70	1,30	0,91	0,04	0,89	0,04	3,3	29,1
LACT	SNV + D	2,10,10,1	524	20	12	3,87	2,33	0,00	13,0	13,0	0,94	0,55	0,93	0,60	3,9	21,8
ACET	SNV + D	2,10,10,1	524	12	15	1,50	0,88	0,14	3,86	3,72	0,89	0,28	0,86	0,32	2,7	11,5
EtOH	SNV + D	2,6,4,1	524	23	10	1,17	0,73	0,00	5,62	5,62	0,77	0,30	0,73	0,33	2,2	17,2
N-Solúbel	SNV + D	2,6,4,1	524	18	10	48,7	10,3	23,0	95,8	72,8	0,93	2,69	0,92	2,93	3,5	24,9
$N\text{-}NH_3$	SNV + D	2,4,4,1	524	12	10	6,77	2,05	0,00	12,8	12,8	0,92	0,58	0,90	0,65	3,2	19,7

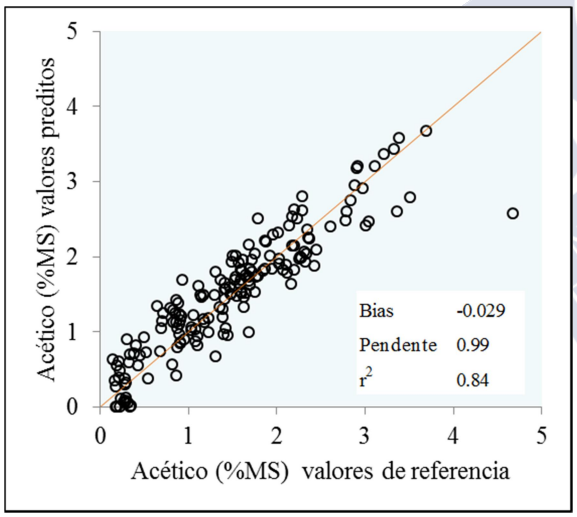
Parámetro	Validación externa															
	n	Outliers	Media	SD	Min	Max	Rango	r^2	SEP	SEPc	Bias	Pend,	RPDve	RERve	GH	NH
pH	171	0	3,81	0,13	3,49	4,11	0,62	0,84	0,05	0,05	0,00	0,93	2,5	11,7	1,35	0,26
LACT	171	0	3,94	2,27	0,00	11,2	11,2	0,92	0,65	0,65	0,04	0,99	3,5	17,2	1,35	0,26
ACET	171	0	1,48	0,87	0,14	4,68	4,54	0,84	0,35	0,35	-0,02	0,97	2,5	12,9	1,35	0,26
EtOH	171	0	1,19	0,67	0,11	3,14	3,03	0,81	0,29	0,29	-0,01	1,01	2,3	10,5	1,35	0,26
N-Solúbel	171	0	49,4	9,81	32,8	76,5	43,6	0,91	2,98	2,98	0,11	1,00	3,3	14,7	1,35	0,26
$N\text{-}NH_3$	171	0	7,05	1,96	2,67	12,4	9,68	0,87	0,70	0,70	0,00	0,97	2,8	13,8	1,35	0,26

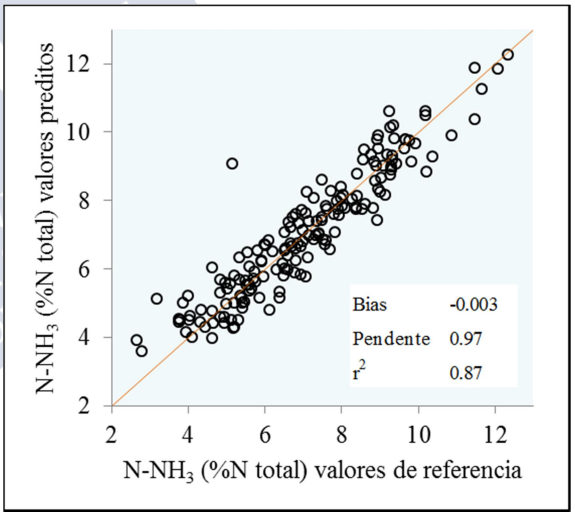
SNV+D: standard normal variate+detrend; n: número de observacións; Outliers: número de mostras anómalas eliminadas; T: número de factores da regresión; SD: desviación estándar; Min: valor mínimo; Max: valor máximo; SEC: erro estándar de calibración; R^2: coeficiente de determinación do modelo de calibración; SEC: erro estándar de calibración; 1-VR: coeficiente de determinación en validación cruzada; SECV: erro estándar de validación cruzada; RPDvc: ratio entre a desviación estándar e o erro de predición en validación cruzada; RERvc: ratio entre rango de valores e o erro de predición en validación cruzada; r^2: coeficiente de determinación en validación externa; SEP: erro estándar de predición; SEPc: erro estándar de predición corrixido por bias; Bias: diferencia media entre os valores observados e os preditos pola ecuación; Pend: pendente da regresión; RPDve: ratio entre a desviación estándar e o erro de predición en validación externa; RERve: ratio entre rango de valores e o erro de predición en validación externa; GH e NH: distancias de Mahalanobis; MS: materia seca; LACT: ácido láctico (%MS); ACET: ácido acético (%MS); EtOH: etanol (%MS); N: nitróxeno; N-Solúbel: N solúbel (% N total); $N\text{-}NH_3$: N amoniacal (% N total)

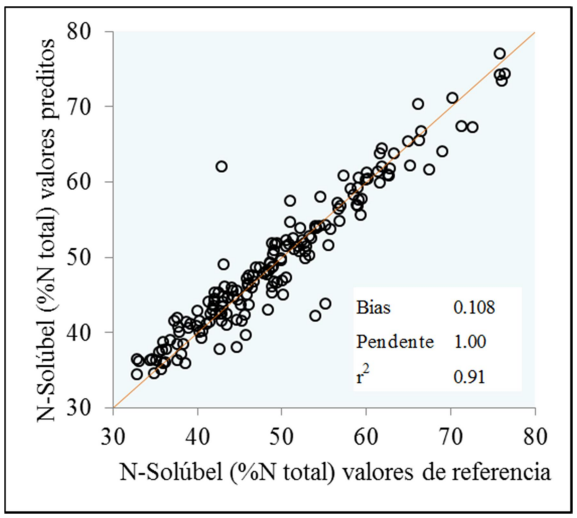
Figura 24.- Plot de valores de parámetros fermentativos medidos polos métodos de referencia e de valores preditos polas ecuacións NIRS para mostras de ensilaxes de planta enteira de millo

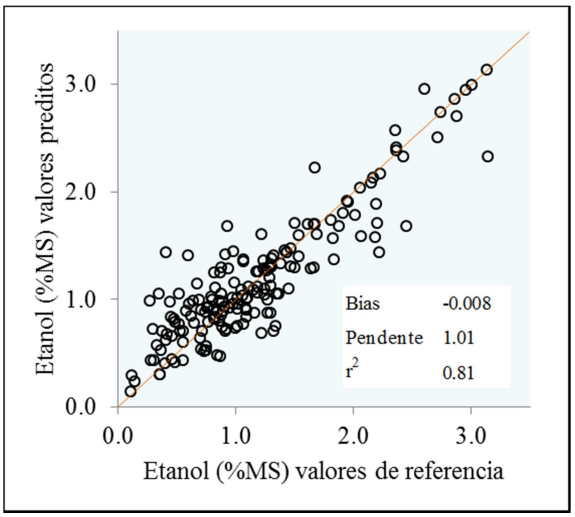












USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

Discusión

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

5. DISCUSIÓN

5.1 - Modelos xerais para a estimación da composición química e dixestibilidade de forraxes

Nun detallado estudo sobre a composición química e a dixestibilidade *in vivo* das forraxeiras clásicas de Francia, Demarquilly e Andrieu (1992) describiron as principais características de máis de 1800 mostras de forraxes en estado fresco incluíndo pratenses e outros cultivos forraxeiros anuais, obtendo valores medios e rango de variación (en % MS) de 89,0 (79,5 a 95,5) para MO, de 15,7 (5,5 a 30,7) para PB e de 30,2 (17,8 a 40,8) para FAD, sendo o valor medio de DMO de 70,4%, oscilando entre un valor mínimo de 52,0% e máximo de 84,0%. A partir dun volume de mostras moito máis reducido, na base de datos de forraxes verdes e ensilados contida nas Táboas FEDNA (2016) se refiren valores medios e rango de variación (en %MS) de 90,3 (84,5 a 90,3) para MO, de 12,2 (7,0 a 22,3) para PB, de 55,5 (39,2 a 79,2) para FND e de 35,6 (22,6 a 53,3) para FAD, mentres que a estimación do valor de DMO a partir dos datos tabulares en ENL e o valor de MO, foi de 68,7% de media, cun rango de variación do 50,9 ao 82,6%. En ambas bases de datos o parámetro co valor do coeficiente de variación (CV) máis alto foi o contido en proteína bruta, seguido das fraccións da fibra e o menos variábel foi o contido en materia orgánica, sendo intermedio entre estes últimos o coeficiente de variación da dixestibilidade da materia orgánica, con valores de CV para a colección de forraxes francesa e española, respectivamente, de 31,2 e 32,4% para PB, de 14,8 e 16,9% para FAD, de 2,7 e 2,7% para MO e de 9,2 e 9,8% para DMO.

Os valores das máis de 1800 mostras de forraxes frescas e ensiladas que se utilizaron no presente traballo para desenvolver as calibracións NIRS para a predición da dixestibilidade mostraron valores medios e rangos de variación da composición química (en %MS) de 90,9 (68,3 a 98,3) para MO, de 13,0 (3,2 a 31,2) para PB, de 45,6 (14,5 a 79,2) para FND e de 30,9 (13,0 a 51,8) para FAD, sendo o valor medio para DMO 70,2%, cun rango de variación de 45,2 a 87,3%, mostrando que os rangos de variación son algo máis amplos aos das anteriores coleccións, mentres que os valores dos coeficientes de variación para os distintos parámetros (44,9% para PB, 21,4% para FAD, 4,2% para MO e 10,0% para DMO) son, así mesmo, algo máis elevados que os das táboas de forraxes citadas no anterior parágrafo.

Ecuacións empíricas

Os métodos químicos da análise composicional das mostras de forraxe non ofrecen unha estimación directa do valor nutritivo, senón que descansan na existencia de asociacións estatísticas entre a composición química e a dixestibilidade *in vivo*, que en moitos casos non teñen significación biolóxica (Cherney, 2000). Unha das consecuencias desta aproximación empírica é que o amplo número de ecuacións existentes na bibliografía difiren significativamente tanto nas variábeis preditoras, como nos coeficientes de regresión para os mesmos preditores, así como no erro de predición. As diversas ecuacións obtidas para estimar a dixestibilidade *in vivo* dos distintos tipos de forraxes en diferentes institucións e laboratorios son polo regular diferentes, como consecuencia das características específicas da colección de mostras da que se derivan, polo que só son útiles cando as condicións en que se realiza a predición son semellantes ás da colección orixinal (López *et al*., 2000). Alén da fiabilidade estatística dos modelos empíricos de predición de dixestibilidade *in vivo* brindada, as limitacións ao seu uso están relacionadas coa variabilidade xenotípica e ambiental, a interacción entre as especies de plantas nas mesturas e a dificultade en representar nos modelos preditivos as relacións causa-efecto entre a dixestión ruminal e a composición da planta (Van Soest, 1994). Sen embargo, as ecuacións empíricas seguen a ser utilizadas amplamente, moitas veces sen contrastar a súa adecuada validez ás particulares condicións do medio onde se pretende a súa aplicación.

Na literatura existe un vasto número de traballos de diferentes autores orientados á obtención de ecuacións para predicir a dixestibilidade da MO de diferentes forraxes en base a súa composición química. En xeral, o contido en proteína bruta nas forraxes funciona como unha fracción uniforme para a maior parte dos alimentos (Weiss, 1993), estando correlacionada positivamente coa dixestibilidade e inversamente co contido en fibra. O valor do coeficiente de correlación r entre PB e dixestibilidade varía amplamente, situándose na revisión de (Minson, 1982) entre 0,15 e 0,90. Tradicionalmente a fibra é a fracción alimentaria máis comunmente utilizada en ecuacións empíricas para predicir a dixestibilidade e o contido enerxético das forraxes, mostrando de forma habitual unha correlación negativa coa dixestibilidade. A súa natureza non uniforme, unido ao seu uso tradicional nas ecuacións, son causa da extraordinaria variabilidade de modelos de regresión que é posíbel atopar na bibliografía para a predición da dixestibilidade das forraxes e alimentos dos ruminantes en xeral.

Por exemplo, nos traballos de Minson (1990), Carro *et al.* (1994) e de Van Soest (1994) para a predición da DMO dun amplo rango de forraxes, se citan valores do coeficiente de correlación r entre DMO e distintos preditores químicos de entre 0,44 a 0,79 para PB, entre -0,45 a -0,80 para FND e de -0,75 a -0,83 para FAD. Coincidindo coas anteriores indicacións, a partir dos valores de DMO e de diversos constituíntes químicos da base de datos de forraxes das Táboas INRA (1989) se pode observar unha alta correlación de signo negativo entre DMO e as fraccións da fibra (r= -0,78 para FAD e r= -0,77 para FB), sendo esta positiva e de media intensidade para PB (r= 0,57) e MO (r= -0,47). Do mesmo signo, pero diferente magnitude, son os valores dos coeficientes de correlación entre DMO e os contidos en PB (r= 0,72), FND (r= -0,65), FAD (r= -0,52) e MO (r= -0,24) da colección de mostras das Táboas FEDNA (2016). Os valores do coeficiente de correlación entre DMO e os distintos constituíntes químicos obtidos no presente traballo para o conxunto de mostras de forraxes frescas e ensiladas foi, respectivamente, de 0,49 e 0,23 para PB, de -0,71 e -0,50 para FND e de -0,64 e -0,44 para FAD, sendo máis parecidos aos derivados das Táboas INRA (1989), sobre todo no que se refire ao conxunto de forraxes frescas.

Os resultados obtidos no presente estudo para a construción dos modelos de predición da dixestibilidade baseados en constituíntes químicos concordan, en xeral, coas observacións de diversos autores recollidas na bibliografía que reportan unha maior fiabilidade na utilización de modelos específicos para os distintos tipos de forraxes comparados co uso de modelos universais. Así, por exemplo, Demarquilly *et al.* (1980) indican que os modelos de predición da dixestibilidade da materia orgánica adoitan ser máis precisos cando se obteñen por separado para as distintas especies e ciclos de crecemento e se aplican nunha zona agroclimática semellante onde se obtiveron as ecuacións, sendo menos precisos cando se trata da predición da dixestibilidade de mesturas de diferentes especies e estados de crecemento.

O mellor modelo xeral baseado en compoñentes químicos obtido para a predición de DMO de forraxes frescas mostrou en validación externa un erro de predición (SEP) de ± 4,3%, que foi superior ao observado por separado para os grupos de pastos frescos e de millo, con valores respectivos de SEP de ± 3,6 e ± 3,8% respectivamente, pero inferior ao observado para o sorgo (± 5,7%) o que se atribúe á inclusión na colección de diversas fraccións da planta con diferente valor de dixestibilidade. Da mesma forma, para o conxunto de ensilaxes, o comportamento do modelo universal para a estimación de DMO observado no noso traballo, comparado co dos modelos específicos para ensilaxes de herba e para ensilaxes de millo, mostra un peor comportamento preditivo, mostrando en validación externa un valor de

SEP de ± 4,9% para o modelo xeral, superior ao valor de ± 4,6% para o grupo das ensilaxes de herba e cultivos de inverno e de ± 2,9% para ensilaxes de millo.

Os valores do erro de predición dos modelos universais se comparan cos resultados doutros autores referenciados na bibliografía. Por exemplo, os valores do erro estándar residual dos modelos de calibración baseados en parámetros químicos para a estimación de DMO dunha colección de mostras de forraxes diversas, indicados nos citados traballos de Minson (1990), de Carro *et al.* (1994) e de Van Soest (1994) oscilaron entre ±2,0 e ±6,5% para as ecuacións baseadas no contido en PB, mentres que eran de entre ±2,4 e ±5,1% para a baseada en FND e entre ±3,6 a ±9,0% cando era FAD o preditor. Así mesmo, para a predición de DMO dun conxunto de ensilaxes de herba e de millo, Murray (1986) reportaron valores do erro estándar residual en calibración de ±4,2% para unha ecuación con FAD como único preditor e de ±2,7% para unha ecuación baseada en LAD. No modelo universal obtido no traballo da Rede Española de Alimentación animal (REDALAN, 2006) para a predición de dixestibilidade da materia orgánica a partir dos constituíntes químicos das mostras, o mellor modelo con PB e FND como preditores para o conxunto universal de mostras obtivo, en calibración, un valor do coeficiente de determinación R^2= 0,55 e do erro estándar residual *RSD*= ±4,81%, comparábeis cos obtidos cos modelos xerais no presente traballo (R^2 de 0,63 a 0,53 para forraxes frescas e de 0,42 a 0,25 para ensilaxes e *RSD* de ±4,1 a ±4,7% para forraxes frescas e de ±4,8 a ±5,5% para o conxunto de ensilaxes).

Os valores das ecuacións de regresión para a predición de dixestibilidade en base ao contido en proteína bruta mostran, polo xeral, un erro de predición relativamente alto, no entorno de 6-7 unidades porcentuais de dixestibilidade, debido ao efecto de factores de variación como o tipo de forraxe (gramíneas ou leguminosas), momento de corte, madurez da planta e condicións ambientais (Minson, 1982). En ocasións, como indican Ribeiro e Moreira (1998) o valor de PB é un bo preditor de DMO en forraxes de especies gramíneas de climas temperados porque a súa concentración diminúe cando a planta madura e tamén varía inversamente coa fracción indixestíbel da fibra, pero para seren suficientemente precisas, as ecuacións deben ser obtidas individualmente para distintas especies, ciclos ou estacións e tipos de solos (Aufrère e Guérin, 1996). Na revisión de Minson (1982) o coeficiente de determinación das ecuacións baseadas en FAD ou FND e a dixestibilidade son relativamente altas (R^2>0,60) pero os erros de predición da dixestibilidade se sitúan no rango entre 2 e 8 unidades porcentuales, sen grandes diferenzas cando se usa un ou outro preditor.

Como se mostrou no anterior apartado, os métodos químicos son menos fiábeis que a técnica NIRS para a estimación do valor de DMO de forraxes, pero en ocasións son a única opción posíbel. Neste caso, como indican entre outros autores Weiss (1993) e (Ribeiro e Moreira, 1998) se deben tomar dúas precaucións: a primeira é relativa ao uso de ecuacións debidamente validadas e en segundo lugar e conectado con esta, dado o efecto dos factores relacionados co tipo de especies de pasto, clima, solo, manexo do cultivo e post-colleita sobre os coeficientes das ecuacións, debe ser tomada a precaución de non realizar a súa aplicación fóra das condicións en que foron obtidos os modelos de predición, baixo pena de incrementar o erro das estimacións nunha magnitude non coñecida *a priori*, sendo necesarias ecuacións específicas para cada tipo de forraxe.

Ecuacións NIRS para a estimación da composición química e DMO

Como resumo dos resultados dos traballos de investigación referidos á capacidade preditiva mediante ecuacións NIRS da composición química de diversas forraxes en estado fresco e ensilados que foron citados no apartado de revisión bibliográfica do presente traballo, na Táboa 94 se mostran os valores medios dos estatísticos que definen a calidade da predición NIRS dos diferentes parámetros. Ordenados estes de maior a menor polo valor do coeficiente de determinación en calibración (R^2) das respectivas ecuacións, se observa que o parámetro predito con maior precisión foi o contido en PB (R^2= 0,92; RPD= 4,2), seguida de FND, FAD e FB (R^2= 0,87-0,91; RPD= 3,0-3,1), de ALM e CSA (R^2= 0,85-0,90; RPD= 2,7-4,0) e de CZ (R^2= 0,82, RPD= 2,5, indicando unha boa calidade para proteína, fibra e carbohidratos non estruturais e moderada para o contido en cinzas.

Táboa 93.- Calidade das ecuacións NIRS para a predición da composición nutricional de forraxes diversas, en estado fresco e conservados, procedentes dos traballos de diversos autores

	n	R^2	*SECV*	r^2	*SEP*	*RPD*	*RER*
PB	49	0,92	0,86	0,88	1,09	4,20	19,01
ALM	5	0,90	2,48	0,85	2,08	2,72	12,12
FND	36	0,90	2,47	0,90	2,48	3,11	14,75
FAD	35	0,87	1,92	0,89	2,44	3,02	12,89
CSA	5	0,85	2,67	0,93	1,30	4,06	12,22
CZ	28	0,82	0,74	0,80	1,09	2,54	15,70

n: número de estudos; R^2: coeficiente de determinación do modelo de calibración; SECV: erro estándar de validación cruzada; r^2: coeficiente de determinación en validación externa; SEP: erro estándar de predición; RPD: ratio entre a desviación estándar e o erro de predición en validación externa; RER: ratio entre rango de valores e o erro de predición en validación externa; MS: materia seca; PB: proteína bruta (%MS); ALM: amidón (%MS); FND: fibra neutro deterxente (%MS); FAD: fibra ácido deterxente (%MS); CSA: carbohidratos solúbeis en auga (%MS); CZ: cinzas (%MS)

Os resultados obtidos no presente traballo en canto á calidade das estimacións NIRS dos parámetros químicos das mostras de forraxes frescas mostraron valores comparábeis aos referidos na bibliografía, toda vez que as ecuacións NIRS de estimación de PB, FND, FAD, CSA e ALM mostraron valores de RPD>3, mentres que a ecuación para a predición de MO mostrou un valor de RPD entre 2,0 e 2,5. En cambio para o conxunto de mostras de ensilaxes, a calidade das ecuacións NIRS para a predición da composición química foi netamente inferior á observada para o conxunto de mostras frescas, toda vez que unicamente para os contidos en MO, FAD e ALM os valores de RPD das ecuacións estiveron no intervalo entre 2,0-2,5, sendo inferiores a 2,0 para PB e FND, o cal se atribúe a que na colección de mostras utilizadas no proceso de validación externa existía variabilidade que non estaba adecuadamente representada no conxunto de calibración. A maior precisión da estimación do contido en PB por NIRS está amplamente referenciada na bibliografía, como se fixo notar noutros apartados do presente traballo. En estudos cun grupo restrinxido de especies se reportan valores de RPD de 1,8 e 2,2 nas ecuacións NIRS elaboradas para cereais (Deaville *et al*., 2009; Stubbs *et al*., 2010), de 5,0 para fenos de cebada (Durmic *et al*., 2010) e de 7,1 para alfalfa (Hsu *et al*., 2000). Noutros estudos con máis de 5 especies de polo menos dúas familias, o RPD para PB era máis alto, chegando a 6,6 no traballo de Andueza *et al.* (2011) con pastos de zonas temperadas de Francia e a 10,3 no de Lobos *et al*. (2013) con pastos de Chile. Os resultados obtidos con pastos australianos de Norman *et al.* (2020) concordan cos de Andueza *et al.* (2011), que indican que cando se incrementa a diversidade da colección de mostras se aumenta a capacidade preditiva do contido en PB.

Da mesma forma, para a estimación da concentración de FND e FAD, se reportan na literatura valores de RPD de 3,5 e 3,4 (Hsu *et al*., 2000; Stubbs *et al*., 2010) e de 4,5 (Parrini *et al*., 2018). Algúns traballos como o de Abrams *et al.* (1987) indican que para a estimación de FND os modelos desenvolvidos para especies concretas adoitan mellorar a calidade da predición, advertindo que no caso de mostras de leguminosas perennes estas mostran consistentemente unha maior variación nos valores de referencia do laboratorio que as leguminosas anuais ou as mostras de gramíneas. Outros traballos mencionaron os problemas na determinación da FND en mostras con alto contido en amidón, proteína ou material mucilaxinoso como é o caso dalgunhas leguminosas perennes (Goering e Van Soest, 1970; McRoberts e Cherney, 2014). Os resultados obtidos no presente traballo mostraron que os modelos de predición NIRS da composición química construídos para cada grupo particular de forraxes se mostraron polo xeral máis precisos que os elaborados sobre o conxunto xeral,

tanto para o conxunto de mostras frescas e sobre todo para as forraxes ensiladas, corroborando as observacións da bibliografía.

Da revisión dos traballos citados no apartado de revisión bibliográfica referidos á capacidade preditiva das ecuacións NIRS para estimar a dixestibilidade de diversos tipos de forraxes, na Táboa 94 se indican os valores medios dos estatísticos que definen a calidade das ecuacións. As ecuacións NIRS para a predición do valor de DMO *in vivo* ou de DMO *in vitro* polo método Tilley-Terry mostraron, de media, unha calidade aceptábel, con valores respectivos, en validación cruzada, para o coeficiente de determinación ($1-VR$) de 0,80 (rango de 0,38 a 0,95) e de 0,81 (rango de 0,60 a 0,98), para o erro estándar de predición ($SECV$) de ±2,4% (rango 0,7 a 3,5) e de ±2,4% (rango 1,2 a 3,6) e para o RPDve de 2,4 (rango de 1,3 a 2,6) e de 2,5 (rango de 1,5 a 5,3).

Os resultados obtidos no presente traballo en canto ao comportamento preditivo das ecuacións NIRS para a estimación do valor de DMO das coleccións de forraxes frescas, por un lado, e as de forraxes ensilados, por outro, se sitúan dentro dos intervalos citados na bibliografía, con respectivos valores do coeficiente de determinación en validación cruzada ($1-VR$) de 0,91 e de 0,75, mentres que o erro estándar de predición $SECV$ e o estatístico RPD eran de ±2,1% e 3,2 para a ecuación de predición de DMO de forraxes frescas e de ±2,9% e 2,0 para a de forraxes ensiladas.

Táboa 94.- Calidade das ecuacións NIRS para a predición da dixestibilidade de forraxes diferentes, en estado fresco e conservados, procedentes dos traballos de diversos autores

Parámetro	n	R^2	$SECV$	r^2	SEP	RPD
DMO Tilley-Terry	10	0,81	2,4	0,74	2,6	2,6
DMO *in vivo*	12	0,80	2,4	0,85	2,3	2,4
DFND *in vivo*	3	0,49	3,8	-	-	1,7

n: número de estudos; R^2: coeficiente de determinación do modelo de calibración; SECV: erro estándar de validación cruzada; r^2: coeficiente de determinación en validación externa; SEP: erro estándar de predición; RPD: ratio entre a desviación estándar e o erro de predición en validación externa

Como indican Alomar e Fuchslocher (1997), citando a Reeves III (1994), as ecuacións de calibración tenden a ter un mellor valor preditivo cando se desenvolven sobre mostras de natureza relativamente homoxénea ou correspondentes a un mesmo tipo de produto, tendendo a diminuír a precisión e a exactitude cando as calibracións se desenvolven sobre conxuntos heteroxéneos. Shenk (1989) demostrou que as ecuacións derivadas de especies ou forraxeiras concretas non proporcionaban resultados suficientemente precisos cando se aplicaban sobre outras especies diferentes, pero que ecuacións universais contendo tódalas fontes de variación

mostraban un aceptábel nível de exactitude e precisión cando se aplicaban sobre mostras independentes, o cal concorda cos resultados dos diversos traballos discutidos anteriormente neste apartado.

Algúns traballos evidencian a utilidade de calibracións NIRS realizadas sobre colección diversas para a creación de ecuacións robustas, de uso xeral, obtendo unha exactitude comparábel á de ecuacións máis locais. Por exemplo, Norris *et al.* (1976) desenvolveron calibracións NIRS para estimar a composición química e valor nutricional dunha colección de forraxes frescos e conservados de diversas especies, podendo explicar entre o 92 e o 98% da varianza da concentración de PB e fraccións da fibra na MS e un 77% da varianza da dixestibilidade das mostras. A validación externa das ecuacións mostraron un erro de predición de ±0,91% para PB, de ±3,1% para FND e de ±5,1% para DMO, sendo demostrada a utilidade da tecnoloxía NIRS para o seu uso na avaliación rápida da calidade nutricional das forraxes mediante ecuacións de uso xeral. Coincidindo con estes resultados, Reeves (1988a,b) desenvolveu ecuacións NIRS para estimar a composición química e a dixestibilidade a partir dunha colección de 67 mostras de forraxes (alfalfa, varias gramíneas e a fracción vexetativa de plantas de millo e de trigo) reportando resultados satisfactorios para a predición mediante NIRS de FAD e FND, con valores de R^2 superiores a 0,94 para o conxunto de validación. Nun recente traballo, Norman *et al.* (2020) investigaron a posibilidade de desenvolver calibracións NIRS para predicir o valor nutricional da maioría das forraxes que se utilizan na alimentación de ruminantes domésticos en Australia. A partir dunha selección de 1086 mostras elixidas en base á súa variabilidade espectral dunha colección máis ampla de máis de 4 mil mostras procedentes de forraxes diversas, o comportamento preditivo das ecuacións NIRS en validación cruzada foi excelente ou boa para a predición de PB, FAD, FND con valores, respectivamente, de RPD de 6,6, 4,3 e 4,8 e de $SECV$ de ±1,1, ±2,1 e ±3,5 %MS e ±2,6%, así como para a de DMS (RPD= 4,0 e $SECV$= ±2,6%), mentres que a estimación da concentración de MO foi algo menos precisa (RPD= 3,2 e $SECV$= ±1,5%), observando que cando se desenvolvían modelos de predición por distintos grupos taxonómicos non se melloraba a calidade das predicións.

Sen embargo, cando se trata de desenvolver calibracións universais NIRS para estimar a composición e dixestibilidade dunha ampla mostra de forraxes frescas e conservadas, os resultados non son polo xeral satisfactorios. Reeves *et al.* (1989) desenvolveron ecuacións NIRS para estimar o valor nutricional dun conxunto de 120 ensilaxes de alfalfa e de planta enteira de millo indicando que para o conxunto das ensilaxes, a porcentaxe de varianza

explicada polos modelos de calibración foi de entre o 97% para PB e o 85% para a dixestibilidade. En validación externa, os valores de r^2 foron próximos a 0,90 para PB, FAD e FND, con valores de RPD superiores a 3,0 para os dous primeiros parámetros e de 2,8 para o último, mentres que para a ecuación de estimación da dixestibilidade os valores de r^2 e RPD foron de 0,71 e 1,9, respectivamente, evidenciando que as ecuacións NIRS eran aceptábeis para a estimación da composición química pero pouco robustas para a predición da dixestibilidade cando se realizaba a validación nun conxunto independente de mostras, sendo preferíbel desenvolver ecuacións por separado para os dous grupos de ensilaxes.

Os resultados do presente traballo, onde se observa un mellor comportamento preditivo das ecuacións NIRS elaboradas para mostras frescas fronte ao das ecuacións de ensilaxes e, á súa vez, a maior fiabilidade das ecuacións construídas especificamente para os diferentes grupos de forraxes fronte aos modelos xerais, están en liña cos resultados reportados na bibliografía. Así, para as forraxes frescas, o modelo xeral mostrou en validación externa un menor valor do coeficiente de determinación (r^2= 0,85) e un superior erro de predición (SEP= ±2,6%), comparado cos valores de r^2 entre 0,87 e 0,91 e de SEP entre ±1,6% e ±2,3% para os modelos específicos das diferentes forraxes. Os valores de RPD de 2,5 para o modelo xeral e de entre 2,7 e 3,4 para os modelos específicos evidencia novamente o mellor comportamento preditivo destes fronte ao modelo xeral. Estas diferenzas a prol da utilización das ecuacións NIRS construídas para os diferentes grupos de forraxes fronte ao modelo xeral foi máis evidente para as forraxes ensiladas, como mostran o valor do coeficiente de determinación do modelo xeral (r^2= 0,34), claramente inferior ao do modelo NIRS para ensilaxes de herba e cultivos de inverno (r^2= 0,89) e ao de ensilaxes de millo (r^2= 0,73) e o erro estándar de predición do modelo xeral (SEP= ±5,7%), moito máis alto que o dos modelos específicos (SEP= ± 2,84 e ± 1,84%, respectivamente). De igual forma, o superior valor do estatístico RPD_{ve} en validación externa das ecuacións para ensilaxes de herba (2,6) e para ensilaxes de millo (1,9) comparado co do modelo xeral para ambos tipos de ensilaxes (1,1) indica de novo a avantaxe do uso das ecuacións específicas fronte ao modelo xeral.

Neste sentido, Kjos (1991) obtiveron calibracións NIRS para estimar o valor de DMO sobre unha colección de mostras de herba fresca, fenos e ensilaxes de 7 especies pratenses colleitadas en diferentes localidades e estados de madurez en Noruega, obtendo ecuacións que conseguían explicar até o 77% da varianza de DMO no conxunto de calibración, indicando que para mellorar a calidade da predición, as calibracións NIRS deben ser desenvolvidas sobre mostras de cada tipo de forraxe, por separado.

Amari e Abe (1997) desenvolveron calibracións NIRS para mostras de fenos e ensilaxes de herba de Xapón, co obxectivo de estimar a composición química e a dixestibilidade dos distintos grupos de forraxe. As ecuacións NIRS obtidas para a mestura de mostras de fenos e de ensilaxes de herba (n=120) mostraron unha moderada capacidade preditiva do valor de dixestibilidade do conxunto de mostras de validación externa, con valores de r^2= 0,72 e SEP= ±3,3%, mentres que a predición foi aceptábel para o contido en PB (r^2= 0,86-0,96, SEP= 0,81-1,38%). As ecuacións desenvolvidas por separado para as coleccións de fenos e ensilaxes de herba foron lixeiramente máis exactas e precisas, con valores de r^2 de 0,74 e 0,88 e SEP de ±2,76 e ±2,75% para os fenos e as ensilaxes de herba, respectivamente.

A partir dunha poboación de 142 mostras de forraxes procedentes de explotacións e distintos laboratorios de seis provincias de China, con distintas especies (planta enteira de millo, cana e follas de millo, ensilaxes de sorgo, de trigo e de arroz), Liu *et al.* (2008) avaliaron a capacidade de predición NIRS da dixestibilidade *in vitro* da materia seca e da FND determinadas mediante incubación con líquido ruminal. A estimación de dixestibilidade *in vitro* foi mediocre, con valores en validación cruzada do coeficiente de determinación, do erro de predición e de RPD_{vc} de 0,78, ±4,9% e 2,2 para DMS e de 0,48, ±6,5 % e 1,3 para DFND, indicando os autores a necesidade de ampliar a variabilidade da poboación de mostras para incrementar a robustez das calibracións.

Os resultados obtidos no presente traballo para os modelos xerais de estimación de DMO sobre as coleccións de mostras frescas e de ensilaxes evidencian que as análises NIRS melloran notabelmente a calidade das predicións comparado coas ecuacións empíricas baseadas nos constituíntes químicos das mostras. Así, para forraxes frescas, cando se compara o comportamento en validación externa do modelo xeral NIRS de predición de DMO fronte ao da mellor ecuación empírica obtida, se observa que a porcentaxe de varianza explicada pola ecuación NIRS foi do 85%, comparada co 60% da ecuación empírica, mentres que o erro de predición do valor de DMO se reducía un 38% ao pasar do valor de ±4,37% do modelo baseado en parámetros químicos a ±2,69% da ecuación NIRS. En canto ás forraxes ensiladas, a capacidade preditiva da técnica NIRS para estimar o valor de DMO mediante unha ecuación universal construída sobre o total da colección de mostras de forraxes ensiladas, cando se realiza a validación cruzada, mellorou significativamente os resultados obtidos polas ecuacións empíricas baseadas en parámetros químicos, permitindo incrementar a varianza explicada desde o 41% ao 75% e reducir o erro de predición desde ±4,9% a ±2,9%. O comportamento da ecuación NIRS en validación externa non foi sen embargo

satisfactorio, non conseguindo mellorar os resultados das ecuacións empíricas e carecendo de utilidade para a estimación de DMO sobre un conxunto de mostras independentes. A falta de axuste da ecuación NIRS no proceso de validación externa parece reflectir que parte da variabilidade do conxunto de mostras independentes non estaba incluída no grupo de calibración, sen descartar o efecto dos erros dos respectivos métodos de referencia pois, como indica Shenk (1989) as mostras seleccionadas para calibración deben conter tódalas variábeis afectadas polas propiedades químicas e físicas das mostras problema a analizar, estando a exactitude da ecuación directamente relacionada con este requisito.

5.2 – Pastos frescos

Traballos realizados no CIAM na década dos 80 (Cebrián, 1981-1985) determinaron a dixestibilidade *in vivo* dun total de 151 mostras de especies pratenses diversas procedentes de distintas localidades, ciclos e estados de madurez, obtendo valores medios para o contido en PB de 16,5%MS (rango 16 a 23), para o de FAD de 31,5 %MS (rango 22 a 42) e para DMO de 69,8% (rango 41 a 85), observándose unha baixa correlación positiva entre a dixestibilidade e o contidos de PB (r= 0,33) e algo máis elevada, pero de signo negativo, co contido en FAD (r= -0,51). Os valores do coeficiente de variación para PB, FAD e DMO foron 22,6, 13,5 e 11,9%, respectivamente.

Na colección de datos das Táboas INRA (1989) que corresponde ás especies pratenses en estado fresco, os valores medios e rangos de variación da composición química das mostras (en %MS) son de 88,6 (79 a 92) para MO, de 16,5 (6,0 a 30,7) para PB e de 29,9 (17 a 41) para FAD, mostrando valor medio de 71,3% para DMO, cun rango de variación de 52 a 83% para este parámetro. Foi observada, por outra parte, unha alta correlación do valor de DMO co contido en FAD (r= -0,81), sendo esta media-baixa para PB (r= 0,53) e MO (r= -0,40).

Nun recente traballo realizado no CIAM, (Flores *et al*., 2019), a partir dunha colección de mostras (n=1081) procedentes da avaliación durante dous anos de 27 variedades comerciais gramíneas e leguminosas pratenses, aproveitadas en réxime de sega para ensilar, se indican valores medios (e rangos de variación), en %MS, de 88,0 (67 a 94) para MO, de 14,7 (5 a 29) para PB, de 30,2 (18 a 47) para FAD, de 50,1 (26 a 70) para FND e de 13,4 (0 a 44) para CSA, cun valor medio de DMO do 70,0% e rango 50 a 84%. O parámetro máis variábel foi CSA, seguido de PB, FND e FAD, con valores de CV de 74, 38, 18 e 17%, sendo os menos variábeis DMO (CV= 8%) e sobre todo MO (CV= 3%). As especies gramíneas mostraron

valores medios significativamente superiores de MO, FND, CSA, CNET e menores de PB e de FAD comparadas coas leguminosas, mentres que os valores medios de DMO foron semellantes. Neste traballo se reporta, para as especies gramíneas e leguminosas, unha alta correlación de signo negativo da DMO co contido en FAD (r= -0,84) e FND (r= -0,92) e de signo positivo, pero máis moderada, cos contidos en CSA (r= 0,63), mentres que a correlación con PB para o conxunto das especies era practicamente nula (r= 0,05).

Os valores medios da colección de pastos frescos utilizada no presente traballo para a obtención de calibracións NIRS para estimar a composición química e o valor de DMO mostraron valores comparábeis aos citados, a pesar da diversidade de especies incluídas en cada colección, en canto ao rango de variación de cada parámetro, con valores de 3 a 33 %MS para PB, de 13 a 48 %MS para FAD, de 15 a 72 %MS para FND, de 0 a 48 %MS para CSA e de 49 a 87% para DMO. O maior coeficiente de correlación con DMO, observado para FAD e FND (r= -0,79 e -0,78, respectivamente) concorda tamén cos citados nos anteriores traballos. En canto á correlación de signo positivo de DMO co contido en PB (r= 0,49) é comparábel á observada nos traballos de Cebrián (1981-1985) e a partir dos resultados das Táboas INRA (1989), mentres que a discrepancia observada coa colección de mostras manexadas en sega para ensilar citadas en Flores *et al.* (2019) se atribúe á diferente proporción de especies de gramíneas e leguminosas nas respectivas coleccións. No citado traballo cando se observaban por separado as especies leguminosas das gramíneas se observaba que a correlación de DMO co contido en PB era relativamente elevada e de signo positivo (r= 0,77) nas primeiras pero de signo negativo e de baixa intensidade (r= -0,25) para as segundas. A correlación entre DMO e as diferentes fraccións da fibra das mostras de herba observada para a colección de pastos no presente traballo son semellantes ao indicados por outros autores, por exemplo Stergiadis *et al*. (2015) que, utilizando unha ampla base de datos con 464 mostras de dixestibilidade *in vivo* coñecida reportan valores do coeficiente de correlación r de -0,79 para FAD e de – 0,78 para FND, coincidentes cos observados no presente traballo, sendo superior o citado por estes autores para PB (r= 0,75).

Como indica Givens *et al.* (1993a), a correlación de FAD coa dixestibilidade é máis elevada cando a herba está no primeiro ciclo de crecemento, pero habitualmente é menos relevante para os rebrotes, debido a que a asociación positiva entre celulosa e lignina se debilita en esta fase. Por esta razón en ocasións o contido en FAD é mellor preditor de DMO que FND, mentres que noutros traballos acontece o contrario. Por outra banda, factores ambientais como a intensidade luminosa e a temperatura poden influenciar a dixestibilidade da herba sen

ningún cambio nas concentracións de FAD ou FND, indicando que estas variábeis, por si soas, non son preditores suficientemente bos da DMO.

Ecuacións empíricas

As ecuacións de regresión seleccionadas no presente traballo para a estimación de DMO baseadas na composición química mostraron valores do coeficiente de determinación en calibración de 0,72 para unha regresión múltiple con FND, PB e CSA como preditores, de 0,62 para unha ecuación con FAD e PB e de 0,61 para unha ecuación con FAD como única variábel. A calidade das súas predicións, en validación externa, foi mediocre, con valores de r^2 entre 0,69 e 0,58 e de SEP entre ±3,6 e ±4,1%. Cando se obtiveron ecuacións por separado para as distintas especies, as ecuacións específicas para leguminosas melloraban lixeiramente a calidade da predición, incrementando para o mellor modelo o valor de r^2 até 0,75 e reducindo o erro de predición SEP até ±3,4% mentres que para as gramíneas a mellora da estimación era inferior, mostrando o mellor modelo un valor de r^2 de 0,54, inferior ao do mellor modelo xeral, cun erro de predición SEP algo inferior, de ±3,5%.

Os resultados obtidos se comparan, en xeral, cos mostrados na bibliografía, en canto á mediocre calidade preditiva das ecuacións empíricas para estimar DMO e á lixeira mellora cando se utilizan ecuacións por separado para as diferentes familias. Osoro e Cebrián (1986) obtiveron no CIAM unha ecuación baseada en FAD para a estimación de DMO da colección de pastos frescos que fora obxecto de avaliación *in vivo* por M. Cebrián e colaboradores. Esta ecuación (DMO% = 107,98 – 1,12 FAD %MS) explicou un 38% da varianza cun RSD de ±7,2%. A posterior inclusión de LAD (%MS) na ecuación incrementou 4 unidades porcentuais a varianza explicada e reduciu unicamente en 0,2 unidades o valor do erro estándar residual (DMO% = 102,7 – 0,72 FAD – 1,75 LAD; R^2= 0,42; RSD= ±7,0%). Non se realizou validación externa destas ecuacións, pero como se observa, a precisión das mesmas na estimación de DMO é moi inferior ao dos modelos empíricos obtidos no presente traballo.

Para diversas ecuacións de predición de DMO de especies gramíneas (n=96) e de leguminosas (n=56) en estado fresco, baseadas en PB e distintas fraccións da fibra, Jarrige (1980) indica valores respectivos de RSD de entre ±3,0 e ±4,9% e de entre ±3,2 e ±5,2%. No traballo realizado por Barber *et al.* (1984) para procurar métodos de estimación do valor enerxético de forraxes se indica a mediocre capacidade preditiva dunha ecuación de regresión para estimar o valor da dixestibilidade da herba fresca a partir do seu contido en FAD, construída sobre unha colección de 131 mostras, obtendo coeficiente de determinación en

calibración de 0,40 e de *RSD* de ±3,9%, sendo estes valores máis semellantes aos obtidos para os modelos elaborados a partir das actuais coleccións de pastos frescos do CIAM.

Tamén son comparábeis os resultados que se indican na publicación das Táboas INRA (2010) para diversas ecuacións de predición da DMO de pastos a partir de constituíntes químicos. Como se observa na Táboa 95, as ecuacións construídas a partir da colección de pastos permanentes (n=98) mostran valores de R^2 de 0,73 e *RSD* de ±3,0%, mentres que para a colección de gramíneas (n=874) e a de especies leguminosas (n=172) os valores de R^2 son, respectivamente, de 0,60 a 0,63 e de 0,65 a 0,71 e os de *RSD* de ±3,8 a ±4,0% e de ±3,5 a ±3,9%, mostrando unha maior precisión na estimación de DMO das especies leguminosas, como se comprobou tamén no presente traballo.

Valores semellantes aos obtidos neste estudo son reportados por outros autores, como por exemplo Stergiadis *et al*. (2015) que, para as ecuacións de predición de DMO de pastos frescos, indican un valor do coeficiente de determinación en calibración R^2 de 0,64 para a ecuación de dúas variábeis con PB e FND como preditores, mentres que en validación externa sobre un conxunto de mostras independentes os valores do coeficiente de determinación r^2 e o erro de predición *SEP* foron, respectivamente de 0,57 e de ±4,6 % para DMO.

Táboa 95.- Ecuacións de predición para estimación da DMO de pastos en base a constituíntes químicos a partir das Táboas INRA (2010)

Tipo de forraxe	n	Ecuación	R^2	*RSD*
Pradeira permanente	98	DMO = 90,1 - 0,95 FB + 0,44 PB	0,73	3,1
		DMO = 99,0 - 1,15 FAD + 0,43 PB	0,73	3,0
Gramíneas	874	DMO = 90,8 - 0,91 FB + 0,35 PB	0,60	4,0
		DMO = 94,3 - 0,94 FAD + 0,33 PB	0,63	3,8
Leguminosas	172	DMO = 95,5 - 1,01 FB	0,71	3,5
		DMO = 114,5 - 1,52 FAD	0,65	3,9

n: número de observacións; R^2: coeficiente de determinación do modelo de calibración; *RSD*: erro estándar residual do modelo de calibración; MS: materia seca; PB: proteína bruta (%MS); FB: fibra bruta (%MS); FAD: fibra ácido deterxente (%MS)

Ecuacións NIRS para a estimación da composición química e DMO

Atendendo aos criterios de Williams (2014) as ecuacións NIRS obtidas no presente traballo para estimar os valores de composición química das mostras de pastos frescos mostraron unha calidade excelente na predición de PB, FND, FAD, CNET e CSA, todas elas con valores de RPD_{ve} en validación externa superiores a 4,0, mentres que a ecuación para a estimación de MO era de mediocre calidade. Para a estimación de DMO, o valor do

coeficiente de determinación en validación externa, próximo a 0,90, o erro de predición SEP ±2,3% e o valor de RPD_{ve}, próximo a 3,0 permitirían unha predición cuantitativa fiábel seguido os criterios de Saeys *et al.* (2005) e de Williams (2014). Por outra parte, cando se compara a capacidade preditiva de NIRS para a estimación do valor de DMO da colección de pastos coa dos mellores modelos empíricos baseados na composición química das mostras, se observa unha clara superioridade da técnica NIRS. Os valores do coeficiente de determinación en validación cruzada e externa para o mellor modelo empírico ($1-VR$= 0,71 e r^2= 0,69) son inferiores aos da ecuación NIRS ($1-VR$= 0,91 e r^2= 0,88) e os erros de predición de DMO da ecuación química ($SECV$= ±3,5% e SEP= ±3,6%) son máis elevados que os da ecuación NIRS ($SECV$= ±2,0% e SEP= ±2,3%). A aplicación da metodoloxía NIRS permitiu, por tanto, a redución do erro de predición externa da DMO en 1,3 unidades respecto do erro cometido pola mellor das ecuacións empíricas, obtendo unha redución do 36% no erro de predición da DMO cando as ecuacións se aplican a un conxunto de mostras independentes.

Os resultados obtidos no presente traballo se comparan favorabelmente cos reportados por diversos autores na bibliografía, tanto na estimación dos diferentes parámetros de composición química como do valor de DMO, sobre todo cando as ecuacións NIRS se obteñen a partir de colección cun alto número de mostras. Como resumo dos resultados obtidos por diversos autores que estudaron a capacidade preditiva das ecuacións NIRS para estimar a composición química de pastos frescos que se expuxeron no apartado de revisión bibliográfica, se observa unha excelente calidade das ecuacións para a estimación dos contidos en proteína, fibra e carbohidratos non estruturais, e mediocre para o contido en materia orgánica, con valores medios do coeficiente de determinación en calibración R^2 superiores a 0,90 e do estatístico RPD en validación cruzada ou externa superiores a 3,0 para as ecuacións de predición de PB, FND, FAD e CSA, e valores de R^2= 0,83 e RPD= 1,8 para o contido en CZ, todos eles coincidentes co observado no presente traballo. Da mesma forma, a revisión dos resultados mostrados na Táboa 18 para os traballos dos diferentes autores que estudaron a capacidade preditiva de NIRS para estimar a DMO de mostras de pastos frescos se observa unha calidade aceptábel das ecuacións NIRS, con valores medios do coeficiente de determinación R^2 de 0,91 e, en validación cruzada ou externa, valores do erro de predición de ±2,4% e de RPD de 2,7, sendo lixeiramente mellores os obtidos no presente traballo (R^2= 0,92; $SECV$= ±2,0%; SEP= ±2,3% e RPD= 3,3 ou 2,8).

Traballos realizados no CIAM sobre unha colección de 169 mostras de pastos frescos, das cales en 69 mostras era coñecido o valor de DMO, Castro (2002) reporta unha satisfactoria capacidade das calibracións NIRS para estimar a concentración de PB, FAD, FND e CSA, con valores de r^2 e RPD_{ve} en validación externa superiores, respectivamente, a 0,90 e 3,0, mentres que a predición da DMO foi menos precisa, con valores en validación cruzada de 0,64 para o coeficiente de determinación, un erro estándar de estimación $SECV$ de ±2,0% e un valor de 1,5 para RPD, claramente por debaixo do umbral de 3,0 que indica a utilidade da ecuación para realizar predicións cuantitativas precisas (Williams, 2014). Sobre unha base de datos máis ampla con 325 mostras de pastos procedentes de distintos estudos na estación experimental do CIAM en Mabegondo e Marco da Curra (A Coruña) e en Pobra do Brollón (Lugo) das que se coñecía o valor de dixestibilidade da materia orgánica *in vitro* determinada con líquido ruminal, Castro *et al.* (2005) examinaron a capacidade da técnica NIRS para estimar a composición química e DMO das mostras, obtendo ecuacións que permitían estimar satisfactoriamente a composición química, mentres que a ecuación para estimación da DMO mostrou un erro de predición en validación cruzada $SECV$ de aproximadamente ±4,4%, concluíndo que NIRS era unha técnica útil para a análise da composición química dos pastos frescos, pero que era necesario mellorar a precisión da estimación da dixestibilidade.

Griggs *et al*. (1999) obtiveron ecuacións NIRS para estimar a dixestibilidade da MS de mostras de herba fresca (gramíneas e leguminosas) presentadas por distintos métodos obtendo valores do coeficiente de determinación en validación cruzada de entre 0,82 a 0,95 e do erro de predición $SECV$ de entre ±1,9 a ±3,1%, que se poden considerar intermedios cos observados no presente traballo.

Andrés *et al*. (2005b) estudaron a capacidade de NIRS para estimar a composición química e a DMO *in vitro* (métodos de Tilley e Terry, 1963 e Goering e Van Soest, 1970, con líquido ruminal) de mostras de pastos botanicamente complexos con distinto grao de madurez (n=107) que foron analizados por métodos de referencia, reportando que NIRS permitía a predición de PB, FND e FAD con alta fiabilidade, obténdose en validación externa valores de RPD_{ve} de 6,9, 7,2 e 3,9, respectivamente, mentres que a ecuación para estimación de DMO mostrou en validación cruzada valores de entre 0,89 e 0,92 para o coeficiente de determinación ($1 - VR$) e de entre 3,0 e 3,4 para o estatístico RPD_{vc} mostrando unha boa calidade da estimación.

Decruyenaere *et al*. (2009) estudaron o potencial de NIRS para predicir DMO *in vivo* dun amplo rango de forraxes de gramíneas e leguminosas pratenses (n=328) de Bélxica e Francia,

obtendo ecuacións que, aplicadas a un conxunto de validación externa, explicaron o 86% da varianza, cun erro de predición de ±2,3 unidades porcentuales e un valor de RPD_{ve} de 2,6, evidenciando que a tecnoloxía NIRS pode predicir satisfactoriamente o valor de DMO de mostras de pastos en estado fresco de diferentes procedencias, sempre e cando a variabilidade do conxunto de mostras externas onde se aplica a ecuación estea incorporada no modelo de calibración.

Andueza *et al.* (2011) estudaron a capacidade de predicir a composición química e a dixestibilidade dunha ampla colección de mostras de forraxes pratenses (gramíneas, leguminosas e as súas mesturas) que foron avaliadas *in vivo* en diferentes ensaios polo INRA francés a partir dunha colección de 1034 mostras analizando diferentes estratexias de calibración (global, local, por especies e por familias). Non obtiveron grandes diferenzas entre estratexias, pero parecen máis robustas as calibracións locais, obtidas mediante selección previa do conxunto de calibración en base á variabilidade espectral do conxunto inicial de mostras. En calquera caso, NIRS puido predicir satisfactoriamente o valor de DMO *in vivo*, explicando un 85% da varianza en validación externa, cun erro de predición de ±2,4-±2,7% unidades porcentuais e un valor RPD_{ve} de 2,6, sendo estes valores comparábeis aos obtidos no presente traballo.

Como indican diversos autores, as ecuacións NIRS construídas para un grupo determinado de especies forraxeiras son, polo xeral, máis exactas e precisas que as ecuacións baseadas en mostras de forraxes diversas. Para mostras frescas de alfalfa, Andueza *et al*. (2001) utilizando unha colección de 222 mostras colleitadas como forraxe verde e procedentes de seis países da zona mediterránea desenvolveron ecuacións NIRS para a estimación da composición química e da dixestibilidade da MS que mostraron unha excelente capacidade preditiva do contido en PB e FND e algo menor para o de MO, mentres que para a estimación da dixestibilidade, cun valor do coeficiente de determinación de 0,90 e erro estándar de predición $SECV$ de ±3,1% a calidade da ecuación se considerou aceptábel, se ben o erro de predición de DMS era relativamente elevado. Para a mesma forraxe, Colombini *et al.* (2005) atopan que NIRS é un excelente preditor de composición química e da dixestibilidade, explicando o modelo de calibración para DMO o 92% da variabilidade existente na dixestibilidade, cun erro estándar de estimación ($SECV$) do ±2%, máis baixo que o obtido por Andueza *et al*. (2001) para esta forraxe.

Jafari *et al*. (2003) mostraron que NIRS era unha técnica fiábel, rápida e de baixo custo para ser utilizado nos traballos de selección e mellora de calidade do raigrás inglés, permitindo

unha adecuada estimación dos valores de dixestibilidade (DOMD), CSA e PB como se indica polos valores do coeficiente de determinación e erro de predición en validación externa que, respectivamente, foron de 0,92 e ±1,6% para DOMD, de 0,96 e ±1,2% para CSA e de 0,96 e ±0,62 % para PB. Li *et al*. (2012) estudaron a capacidade preditiva de NIRS para estimar a composición química e dixestibilidade da materia orgánica *in vitro* de diversos trevos anuais de orixe mediterránea cultivados en Australia, obtendo ecuacións cunha excelente capacidade preditiva da composición química para PB, FND e CEL e mediocre para MO, con valores en validación externa de, respectivamente, 0,98, 0,97, 0,96 e 0,69 para r^2, mentres que para a predición de DMO a ecuación NIRS mostrou valores de 0,92 para r^2 e de ±2,03% para SEP, demostrando que NIRS pode ser utilizado como un método rápido e preciso para predicir o valor nutricional de trevos anuais. Yang *et al.* (2017) desenvolveron ecuacións NIRS para a predición da composición química de raigrás italiano, obtendo elevados coeficientes de r^2 e RPD_{ve} en validación externa con valores de, respectivamente, 0,99 e 9,3 para PB, 0,91 e 3,4 para FND, 0,95 e 4,4 para FAD e 0,91 e 3,3 para CSA. Os resultados mostran a capacidade de NIRS para a análise de rutina de raigrás italiano, aplicado por exemplo a programas de mellora que manexan un alto número de mostras.

A utilización das ecuacións específicas para distintas especies con propósito de servizo analítico en rutina ás explotacións está condicionado pola correcta identificación das mostras, non sempre posíbel, polo que se considera preferíbel a utilización de ecuacións máis robustas, baseadas nun alto número de mostras cunha ampla variabilidade, como as obtidas no presente traballo.

5.3 – Cultivos de inverno en estado fresco

Nas memorias do CIAM publicadas entre os anos 1983 e 1988 (Cebrián, 1983-1988) se reportan traballos relativos á caracterización nutricional de 36 diferentes cultivos de inverno, principalmente cereais e leguminosas anuais colleitadas en distintos estados de madurez e que foron obxecto de avaliación da dixestibilidade *in vivo* en estado fresco ou ensiladas. Os valores medios e rango de variación (en %MS) foron de 88,6 (71 a 95) para MO, de 11,3 (5 a 22) para PB e de 43,6 (27 a 49) para FAD, mentres que para DMO o valor medio foi de 62,9%, cun rango de variación de 44 a 75%. Os parámetros con maior variabilidade foron os contido en PB e FAD (CV= 36,1 e 21,1% respectivamente), sendo o de MO o menos variábel (CV= 5,1%). O valor do coeficiente de variación de DMO foi de 11,5% e se observou unha

baixa correlación de DMO coa maior parte dos parámetros químicos, sendo negativa co contido de FAD (r= -0,43) e do mesmo valor absoluto pero de signo positivo co contido en PB (r= 0,43).

Na colección de datos das Táboas INRA (1989) que corresponde aos cultivos de cereais de inverno e de chícharo en estado fresco, cultivados en distintos estados de madurez, os valores medios e rangos de variación da composición química das mostras (en %MS) son de 90,9 (85 a 94) para MO, de 10,9 (5 a 22) para PB e de 31,6 (21 a 39) para FAD, mostrando un valor medio de 66,9% para DMO, cun rango de variación de 57 a 84% para este parámetro. Foi observada, por outra parte, unha alta correlación do valor de DMO co contido en PB (r= 0,88), sendo esta máis baixa para FAD (r= -0,63) e MO (r= -0,56).

Fishert e Fowler (1975), examinando as relacións entre o valor de DMO *in vitro* de cereais de inverno (centeo, trigo, avea, cebada e triticale) colleitados para forraxe en distintos estados fenolóxicos, indican valores do coeficiente de correlación de -0,69 para FND, de -0,60 para FAD e -0,40 para HCEL.

Os rango de valores das anteriores coleccións para os diferentes parámetros están dentro dos observados no presente traballo para o conxunto de mostras de cultivos de inverno en estado fresco, se ben mostrou unha variación máis elevada en particular para os contidos en PB (rango 5 a 29 %MS) e DMO (rango 48 a 84%). En canto ao valor dos coeficientes de correlación entre DMO e a composición química, os nosos resultados son coincidentes cos observados para as anteriores coleccións en canto á existencia dunha significativa correlación negativa coas fraccións da fibra, máis alta para o contido en FAD (r= -0,83) e máis reducida para FND (r= -0,57), sendo de signo positivo e baixa intensidade para o contido en PB (r= 0,40) e CSA (r= 0,39).

A variabilidade na composición das mostras da colección de cultivos de inverno reflicte a acusada variabilidade existente entre diferentes xenotipos, así como dentro da mesma especie por factores de medio, climáticos e de manexo. Cherney e Marten (1982) indican que a diminución do valor nutritivo no talo, vainas e limbos das follas de cereais de inverno cando a planta madura é parcialmente compensado pola crecente contribución da inflorescencia, altamente dixestíbel, durante a fase de enchido do grao e sinalan que a variación da dixestibilidade *in vitro* (DMS) de cereais de inverno oscilou entre o 80 e o 58% desde o estado de expansión da folla bandeira até o estado de grao pastoso (4 semanas tras o espigado). O efecto ano e a localidade inducen variabilidade en DMO, citando valores para a

DMO *in vitro* do triticale entre 72,9 e 66,1%, como media de seis datas de corte entre os citados estados, en dúas localidades e dous anos, estando este intervalo dentro do observado para a colección de mostras utilizada no presente traballo.

Collar e Aksland (2001) reportan que a porcentaxe de fibra nos cereais de inverno non se incrementa coa madurez, a partir dun certo estado, debido á acumulación de carbohidratos no grao que dilúen o incremento de fibra en tallo e follas. A dixestibilidade é maior en estados inmaduros nos cales en ocasións o contido en fibra é superior que en estados máis avanzados, resultando en ocasións nunha correlación positiva entre a fibra e o valor de DMO. Sen embargo, diversos factores entre os que se salientan os ambientais poden afectar á acumulación de carbohidratos na planta, polo que dita correlación pode verse invertida, como se observou no presente traballo. Esta inconsistencia dificulta a predición da dixestibilidade dos cereais de inverno mediante ecuacións de regresión baseadas en compoñentes da parede celular como preditores, como mostran os resultados dun ensaio con variedades de centeos híbridos realizado no CIAM en 2015 (Flores G., *com. pers.*) sementados a distintas densidades e datas no outono e colleitados nos estados anterior ao espigado, inicio e pleno espigado entre o 15 de abril e o 10 de xuño, onde os respectivos valores medios nos tres estados foron, para PB de 11,6; 8,4 e 5,5 %MS, para FAD de 36,8; 43,2 e 34,1 %MS, para CNET de 9,5; 8,0 e 29,7 %MS e para DMO de 64,1; 57,9 e 60,0% .

O contraste entre os valores das mostras de chícharo e as de triticale e as súas mesturas reproducen as características de composición química e de dixestibilidade de especies leguminosas e gramíneas. Como indican Sheldrick *et al*. (1987) as leguminosas conteñen aproximadamente un 60% da fibra estrutural (FND) da que presentan as gramíneas e a dixestibilidade desta fracción é superior, contribuíndo ao 50-55% da materia orgánica dixestíbel total, mentres que no caso das gramíneas dita contribución é unicamente do 25%. Como indica, entre outros autores, Wilkins (2001) as maiores diferenzas entre ambas familias se refiren ao maior contido en CZ e PB e menor de FND e CSA na materia seca das leguminosas, tal como se reflicte na composición das mostras da colección de forraxes de inverno.

Ecuacións empíricas

Van Soest (1983) e Cherney e Marten (1982) sinalan que nas forraxeiras pratenses a fibra se incrementa coa idade da planta, en contraste cos cereais forraxeiros nos cales o contido en lignina e fibra inicialmente se incrementa co avance da madurez seguido por unha fase de

plateau ou incluso un descenso conforme se realiza o enchido do grao nas fases finais do ciclo de crecemento. Por esta razón DePeters *et al*. (1989) argumentan que cando se utilizan ecuacións de predición de DMO baseadas na fibra que foran obtidas para especies pratenses para estimar a dixestibilidade de cereais forraxeiros, se poden obter estimacións erróneas porque a maior parte desas ecuacións asumen unha relación negativa entre DMO e contido en fibra. Estudando o valor nutricional de cereais de grao pequeno utilizados para forraxe Cherney e Marten (1982) observan que os contidos en FAD, CSA e LAD se incrementan desde o estado vexetativo até o espigado, permanecendo relativamente constantes tras este estado. Noutro traballo con cereais de inverno para uso forraxeiro, Fearon *et al.* (1990) reportaron que tras o encanado a dixestibilidade do triticale descende co avance da madurez, mentres que Baron *et al*. (1992) indican que a DMO da cebada forraxeira permanece constante durante un período aproximado de 7 semanas tras o espigado. Tras un certo estado de madurez, o contido en FAD non é un bo preditor da dixestibilidade porque o incremento da proporción de grao no conxunto da planta dilúe o incremento da fibra no talo e por tanto modula os cambios en FAD cando madura a planta de cereal, resultando que este parámetro pode non ser un bo indicador da dixestibilidade destas forraxes.

Todas as ecuacións empíricas seleccionadas no presente traballo para a estimación de DMO dos cultivos de inverno integraban o contido en FAD como preditor, que nos mellores modelos se acompañaban do contido en CSA (modelo xeral e mesturas de triticale e chícharo), de CSA e PB (chícharo) e de ALM (triticale). Todas elas presentan unha baixa fiabilidade cando se aplican a mostras non incluídas no modelo de calibración, con valores de varianza explicada por debaixo do 60% e erros de predición entre ±3,9 e ±4,2 unidades. A capacidade preditiva das ecuacións xerais é mellorada polas ecuacións específicas construídas para o conxunto de mostras de chícharo, que mostraron unha calidade entre aceptábel e baixa con valores de varianza explicada superiores ao 70% e erros de predición entre ±2,1 e ±2,4 unidades. Polo contrario, as ecuacións específicas para os grupos de triticale e de mesturas foi inferior á observada para as ecuacións desenvolvidas sobre o total de mostras, non sendo de utilidade con propósitos preditivos, en parte debido ao reducido número de mostras nestes dous grupos.

Os resultados obtidos se comparan, en xeral, cos mostrados na bibliografía, en canto á mediocre calidade preditiva das ecuacións empíricas para estimar DMO e á lixeira mellora cando se utilizan ecuacións por separado para as diferentes familias. As ecuacións de regresión baseadas en compoñentes químicos para a estimación do valor de dixestibilidade,

derivadas da colección de mostras de cultivos de inverno avaliadas *in vivo* no CIAM entre 1983 e 1988 (23 mostras de cereais e mesturas con leguminosas, en estado fresco ou ensilado) non permitiron predicir satisfactoriamente o valor de DMO *in vivo*, toda vez que a mellor ecuación, baseada nos contidos de FAD e PB (DMO% = 104,7 – 1,29 FAD + 1,77 PB; onde FAD e PB se expresan en %MS), mostraba valores do coeficiente de determinación en calibración (R^2) de tan só 0,50 e unha desviación estándar residual (RSD) de ±6,2%. Utilizando a base de datos fornecida polas Táboas INRA (1978) e das Táboas INRA (2007) con valores de DMO e composición química de cereais de inverno (trigo, avea, centeo e cebada) e de proteaxinosas (chícharo, soia, lupinos e faba) se obtivo, para o conxunto das especies (n=64), unha ecuación baseada nos contidos en PB e FAD, coa expresión DMO = 66,0 + 0,90 PB – 0,32 FAD (R^2= 0,48 e RSD= ±5,1%), mentres que para os cereais de inverno (n=42) se obtivo unha ecuación baseada no contido en PB como único preditor, coa expresión DMO = 48,4 + 1,66 PB (R^2=0,63 e RSD= ±4,6%) e para as especies leguminosas a ecuación para a predición de DMO integraba unicamente o contido en FAD como preditor, coa expresión DMO = 90,8 – 0,69 FAD e valores de R^2= 0,31 e de RSD= ±4,5%. Comparados cos resultados obtidos no presente traballo, as anteriores ecuacións mostran unha precisión máis reducida, a xulgar polos valores do erro de predición e do coeficiente de determinación, se ben a diversidade de especies é máis elevada.

Ecuacións NIRS para a estimación da composición química e DMO

As ecuacións NIRS obtidas no presente traballo para estimar os valores de composición química das mostras de pastos frescos mostraron unha calidade excelente na predición de PB, FND, FAD, CNET, CSA e DMO, todos elas con valores de RPD_{ve} en validación externa claramente superiores ao valor mínimo de 3,0 indicado por Williams (2014) para considerar as ecuacións como aptas para realizar predicións cuantitativas sobre mostras independentes, mentres que a ecuación para a estimación de MO era de mediocre calidade.

A bibliografía mostra unha información relativamente escasa acerca da obtención de ecuacións NIRS desenvolvidas especificamente para a estimación do valor nutricional de cultivos de inverno. Algúns traballos iniciais que comparan a utilidade da técnica NIRS para estimar o valor nutricional de cereais de inverno coa de ecuacións baseadas en parámetros químicos mostran un mellor comportamento das ecuacións empíricas. Por exemplo, Moe e Carr (1984) utilizando un instrumento de filtros desenvolveron ecuacións NIRS para estimar a dixestibilidade (DMS *in vitro*) de 62 mostras de ensilaxes de centeo (valor medio 59,8%, rango 36-96%), reportando un coeficiente de determinación de 0,59 e un erro estándar de

±6,7%. Estes valores foron mellorados por ecuacións empíricas baseadas en FAD (R^2= 0,70 e RSD= ±4,9%) e en FAD e PB (R^2= 0,74 e RSD= ±4,5%). Outros traballos, sen embargo, son coincidentes en reportar o bo comportamento da técnica NIRS para a estimación da composición química e da dixestibilidade dos cultivos de inverno. Os resultados obtidos no presente traballo se comparan favorabelmente cos obtidos por outros autores que estudaron a capacidade preditiva das ecuacións NIRS para estimar a composición química de cultivos de inverno. Por exemplo, Marten *et al.* (1989) reportan resultados de ecuacións NIRS para a estimación da composición química e da DMO *in vitro* dunha ampla base de datos de 700 mostras de planta enteira de cereais (avea, cebada, trigo e triticale) colleitados en distintos estados de madurez, distintas localidades e anos, reportando que a porcentaxe de varianza explicada polas ecuacións de predición se mantivo entre 0,92 para DMO *in vitro* e 0,99 para PB, con valores do erro estándar de predición entre ±0,7 a ±1,1 %MS para PB, entre ±1,8 e ±2,3 %MS para FND, entre ±1,0 a ±1,6 %MS para FAD e entre ±3,1 a ±4,1% para DMO. Bruno-Soares *et al*. (1998) estudaron a capacidade preditiva de NIRS para estimar a composición nutricional e o valor enerxético de 135 mostras de forraxes incluíndo cereais (avea, cebada, triticale, trigo e sorgo) e raigrás italiano cultivados en Portugal, indicando que as calibracións NIRS permitiron unha adecuada estimación da composición química con valores de R^2 e SEC, respectivamente, de 0,98 e ±0,63% MS para PB, de 0,97 e ±1,41% MS para FND, de 0,96 e ±1,43 %MS para FAD, mentres que para DMO os respectivos valores foron de 0,88 e ±2,36%. Os erros de predición das ecuacións NIRS obtidos no presente traballo (± 1,0% para PB, ±1,5% para FND, ±0,96 para FAD e ±1,69 para DMO) confirman a boa calidade das mesmas, en particular para a estimación de DMO.

Cando se comparan os resultados obtidos pola aplicación da técnica NIRS coa das ecuacións empíricas para a predición do valor de DMO da colección de cultivos de inverno no presente traballo se observa unha clara mellora na fiabilidade das estimacións NIRS, coincidindo co reportado de forma xeral na bibliografía por outros autores. No presente estudo, tanto a porcentaxe de varianza explicada ($1-VR$= 0,95 e r^2= 0,91) como os erros de predición ($SECV$= ±1,41% e SEP= ±1,69%) obtidos polas ecuacións NIRS en validación cruzada e externa, respectivamente, son moi superiores aos obtidos para o mellor modelo multivariábel en base a parámetros químicos ($1-VR$= 0,72; $SECV$= ±3,25% e r^2= 0,56; SEP= ±4,08%). Por outra banda, a aplicación da técnica NIRS permite, en comparación co mellor modelo de predición baseado en parámetros químicos, diminuíu o erro de estimación da DMO en 2,39

unidades, o que representa unha redución do 58%, mostrando claramente a superioridade preditiva da tecnoloxía NIRS, a este respecto.

5.4 – Planta enteira de millo en estado fresco

No sistema de valoración INRA, a dixestibilidade da ensilaxe de planta enteira do millo se considera practicamente igual á da planta orixinal en estado fresco, con diferenzas inferiores a 0,01 Unidades Forraxeiras Leite (UFL) entre ambos estados (Andrieu *et al*., 1993). Como indican, entre outros autores, Deinum *et al*. (1984) mentres que a dixestibilidade da espiga é practicamente constante (84-85%), a da parte vexetativa sofre unha ampla variación (74-58%). A variación da DMO na planta enteira co incremento da madurez entre os estados de grao leitoso a vítreo é xeralmente moderado, toda vez que o descenso de dixestibilidade na parte vexetativa é compensado polo incremento proporcional de grao altamente dixestíbel (Van der Honig, 1979), tendo lugar un descenso de dixestibilidade da planta unha vez chegada a fase de grao en estado vítreo. A dixestibilidade da materia orgánica do millo fresco é menos variábel que a doutras forraxes, citando Andrieu (1995) para un conxunto de 226 mostras avaliadas *in vivo* un valor medio de 71,7% (rango 67-78%), estando esta variabilidade relacionada co estado de madurez na colleita, coa variedade, co ano e coa localidade de cultivo. Os resultados dun traballo de Aufrère *et al*. (1992) cifraban en 10 puntos de DMO a variabilidade observada para unha diversa colección de mostras de planta de millo cultivadas en tres localidades francesas durante dous anos e recollidas en diferentes estados de madurez. Nos valores que nas Táboas INRA (1987) se indican para o millo fresco en distintos estados de madurez un valor medio de DMO entre 71 e 73%, mentres que este rango se amplía até 68-72% nas Táboas INRA (2010). Estes valores están dentro do rango de DMO da colección de mostras utilizadas no presente traballo, que oscilou entre 56 e 77%. A superior variabilidade da nosa colección pode estar relacionada pola inclusión de mostras de planta enteira de millo procedentes de cultivos afectadas en distinto grao por condiciones de seca estival que alterou a relación espiga/resto da planta en relación a condicións normais de cultivo.

Os valores de composición química (en %MS) das mostras das Táboas INRA entre un estado de madurez pouco avanzado (grao en *blister*) e un estado próximo á colleita (grao pastoso-vítreo), oscilan nun rango entre 93,4 e 95,5% para MO, entre 7,4 e 9,9% para PB, entre 20,0 e 25,4% para FAD e entre 44,8 e 49,6% para FND. Os respectivos valores da nosa colección se

sitúan nun rango algo máis amplo (valores de entre 93,5 e 98,3% para MO, de entre 4,5 e 8,6% para PB, de entre 38,1 e 58,5% para FND e de entre 17,4 e 33,9% para FAD), reflectindo unha maior variabilidade e englobando o conxunto de valores das coleccións francesas, salvo para o contido en PB que mostra un máis baixo no noso caso. Estes valores son semellantes aos referidos por Flores (2004) que a partir de 360 mostras de planta enteira de millo cultivado en Galiza procedentes de distintos xenotipos e anos, e colleitada a diferentes estados de madurez da planta indican rangos de variación na composición química (%MS) de 94,3 a 98,3% para MO, de 4,0 a 7,7% para PB, e de 18,0 a 29,0% para FAD, oscilando o valor de DMO entre 67,6 e 79,3%.

Ao igual que para os cereais de grao pequeno, a evolución da composición química da planta enteira de millo coa idade amosa un descenso da proporción de parede celular que non necesariamente se ve reflectida nun incremento da dixestibilidade (Wilkinson, 1979). A partir dos valores das Táboas INRA (2010) para planta enteira de millo en estado fresco e ensilada se deducen a existencia dunha feble correlación positiva entre DMO e PB (r= 0,47) sendo de signo negativo e máis elevada para os valores de fibra (r= -0,90 para FB, r= -0,79 para FND e r= -0,94 para FAD). Na colección de mostras do CIAM utilizada no traballo de Flores (2004) se obtiveron coeficientes de correlación co valor de DMO de r= 0,27 para ALM, de r= 0,47 para MO e de r= -0,74 para FAD. Nun traballo posterior tamén realizado no CIAM, Campo *et al.* (2013) reportan a existencia de correlacións significativas entre os valores de DMO *in vitro* e distintos parámetros de composición química da planta enteira de millo, con valores do coeficiente de correlación r de 0,62 para CSA, de 0,35 para PB, de -0,48 para FAD e de -0,38 para FND. Sen embargo, na colección de mostras de millo fresco utilizado no presente traballo non se atoparon correlacións significativas entre DMO e os parámetros MO, PB, FAD e FND probabelmente debido á inclusión de mostras de planta de millo nun estado anterior á floración. A este respecto, no traballo de Andrieu (1976a) sinálase a ausencia de correlacións significativas entre a DMO das plantas de millo normalmente desenvolvidas e a composición química, mentres que cando se consideraban unicamente aquelas plantas colleitadas a partir dos 40 días da floración se observaba unha moderada correlación significativas co contido en fibra bruta (r= -0,45).

Ecuacións empíricas

A predición da DMO das mostras de planta enteira de millo mediante ecuacións empíricas vese dificultada pola relativamente escasa correlación existente entre a dixestibilidade e a composición química, o que conduce ao establecemento de ecuacións dun poder preditivo en

xeral mediocre. As primeiras ecuacións do INRA (1981), válidas unicamente para plantas con máis do 28% MS ou cunha idade de máis de 50 días da floración feminina, estaban baseadas no contido en FB e mostraban un moderado valor do coeficiente de determinación en calibración (R^2= 0,49). As ecuacións de predición de DMO baseadas en parámetros químicos obtidas no presente traballo incluían como preditores aos contidos de ALM e FND ou FAD e mostraron unha pobre capacidade preditiva, con valores do coeficiente de determinación R^2 de entre 0,37 e 0,39 e desviación estándar residual RSD de entre ±3,6 e ±3,7%. Estes resultados se comparan aos referidos noutros traballos da bibliografía por diferentes autores. Por exemplo, Aufrère *et al.* (1992), a partir de mostras de planta enteira de millo colleitadas distintas localidades de Francia durante varios anos, reportan correlacións significativas entre DMO e diversas expresións da parede celular, obtendo ecuacións de predición baseadas en LAD e FB con valores de R^2 entre 0,25 e 0,42 e de RSD no entorno de ±2,0 unidades porcentuais. Dardenne *et al*. (1993) obtiveron ecuacións algo máis precisas para a estimación de DMO dunha ampla colección de híbridos de millo, indicando que unha ecuación de regresión baseada en FAD explicaba un 43% da varianza cun RSD de ±2,1%, mentres que outra ecuación que integraba LAD e PB aumentaba a varianza explicada até o 53% cun RSD de ±1,9%. Givens *et al*. (1995), utilizando 4 colección de ensilados de millo (dúas do Reino Unido, unha de Bélxica e outra de Holanda) obtiveron ecuacións de predición de DMO con valores de R^2 entre 0,46 e 0,42 e de RSD entre ±3,1 e ±3,3%. Noutro traballo posterior, Andrieu *et al.* (1999) reportan valores do coeficiente de determinación R^2 de entre 0,20 e 0,51 e do erro estándar residual (RSD) de entre ± 2,2 e ±2,9% para ecuacións de estimación de DMO de mostras de planta de millo baseadas unicamente en FAD e ALM, mellorando a calidade da predición cando se incrementaba o número de preditores químicos no modelo, obtendo valores de 0,55 para R^2 e de ± 2,2% para RSD cando se utilizaban FND, FAD e LAD na mesma ecuación. Máis recentemente, na publicación das Táboas INRA (2010) se indica unha ecuación de predición de DMO de mostras de millo fresco a partir do contido en FB e PB con valores de R^2 de 0,40 e RSD de ±2.0%. Unha recente revisión desta ecuación integrando novos valores de DMO determinados *in vivo* (Peyrat *et al*., 2016) obtiveron valores de R^2= 0,49 e RSD= ±1,85% para unha ecuación coa expresión DMO (%) = 79,6 + 0,68 PBo – 0,60 FBo, sendo PBo e FBo os respectivos valores de PB e FB expresados en porcentaxe sobre o contido en materia orgánica, que melloran lixeiramente a precisión das ecuacións pero que manteñen unha baixa fiabilidade na aplicación da ecuación para a estimación do valor de DMO de mostras externas.

Ecuacións NIRS para a estimación da composición química e DMO

Os valores obtidos no presente traballo sinalan unha excelente calidade da predición NIRS dos contidos en PB, FND, FAD e ALM, con valores de r^2 superiores a 0,90 e RPD superiores a 3,0, sendo menos precisa a ecuación para estimación do contido en MO (r^2= 0,71 e RPD= 1,9) o que coincide, en liñas xerais, cos resultados que se poden atopar da bibliografía. Por exemplo, os traballos de Valdés *et al*. (1990) reportaron a utilidade de ecuacións NIRS para a estimación da composición química da planta enteira de millo, indicando valores do coeficiente de determinación en validación externa e do erro de predición de ecuacións NIRS de, respectivamente 0,80 e ±0,50 %MS para PB e de 0,88 e ±1,60% para FAD. Estes resultados son refrendados polos traballos doutros autores, como é o caso de De la Roza *et al*. (1995) que estudando a utilidade de NIRS para estimar o valor nutricional de mostras de planta enteira de millo do Norte de España, sinalaban a excelente calidade das ecuacións para a estimación dos contidos en FND e ALM, con valores do coeficiente de determinación R^2 de 0,91 e 0,90, do erro estándar de predición en validación cruzada de ±1,4 e ±1,7% e de RPD de 3,3 e 3,1, respectivamente, mentres que para a predición de PB a calidade era aceptábel (R^2= 0,85; $SECV$= ±1,7% e RPD= 2,5), non sendo satisfactoria para estimar o contido en CZ (R^2= 0,69; $SECV$= ±0,3% e RPD= 1,8). Coincidindo con estes resultados, Cozzolino *et al*. (2001) para unha colección de mostras de planta enteira de millo do Uruguai, indican un excelente comportamento das ecuacións NIRS para estimar FAD (r^2= 0,98 e SEP= ±1,8%), sendo algo menos preciso para a estimación de PB e FND (r^2= 0,86 e 0,83 e SEP= ±1,0 e ±2,4%, respectivamente) e deficiente para CZ (r^2= 0,64 e SEP= ±0,3%). En traballos realizados no CIAM, Campo *et al*. (2013) a partir dunha ampla colección de mostras de planta enteira de millo procedentes de diversos ambientes, anos e xenotipos (450 mostras para calibración e 87 para validación) reportan un bo comportamento das ecuacións NIRS para a predición de FAD, FND, CSA e MO, con valores do coeficiente de determinación en validación externa r^2 próximos a 0,90 e de RPD superiores a 3,0, sendo algo menos precisa a estimación de PB e ALM con valores de r^2 entre 0,80 e 0,90 e de RPD próximos a 2,5.

A ecuación de regresión NIRS obtida no presente traballo para estimar o valor de DMO da colección de mostras de planta de millo mostrou un valor do coeficiente de determinación en calibración e validación cruzada superior a 0,90, un erro de predición $SECV$ de ±1,4 e un valor RPD_{vc} superior a 3,0, mostrando unha excelente calidade de predición aplicada á predición da dixestibilidade de mostras de similares características ás da colección de calibración. En validación externa mantivo un baixo valor do erro de predición SEP (±1,8%)

e aínda que o valor de RPD_{ve} foi algo inferior ao umbral de calidade que indica unha excelente predición cuantitativa, o valor de RER_{ve} >10 avalou a utilidade da ecuación para estimar en rutina a DMO de mostras problema cunha aceptábel fiabilidade, se ben os resultados aconsellan que para aumentar a robustez da predición da DMO de mostras independentes, debe ser incrementada a variabilidade da colección de calibración. Por outra banda, no presente traballo a técnica NIRS mostrou unha clara superioridade da capacidade preditiva respecto da mostrada polas ecuacións empíricas para a estimación da DMO de mostras de planta enteira de millo en estado fresco, o que coincide co reportado por outros autores na bibliografía. Comparando os resultados obtidos no proceso de validación externa, o modelo de predición NIRS multiplicou por un factor de aproximadamente 4 a porcentaxe de varianza explicada polas ecuacións empíricas (r^2=0,87 vs. r^2=0,24), mentres que o erro de predición mostrado polos modelos baseados en análises químicos se reducía nun 53% aproximadamente, pasando de ±3,9% a ±1,8% mediante o uso das calibracións NIRS.

Estes resultados se comparan favorabelmente cos reportados por outros autores en canto á utilidade da tecnoloxía NIRS para estimar o valor de DMO da planta de millo que se examinan a continuación, se ben resultados iniciais de aplicación da técnica NIRS para a estimación de DMO de plantas de millo indicaron resultados non sempre satisfactorios. Por exemplo, as ecuacións desenvolvidas por Moe e Carr (1985) sobre unha colección de 142 mostras cun rango de valores de DMO *in vitro* de 38 a 74%, indicaban unha baixa calidade das ecuacións NIRS cun erro de predición en validación externa (SEP) de ±4,0%, semellante ao obtido para unha ecuación baseada en FAD construída coa mesma poboación.

Posteriores estudos mostraron claramente a utilidade da técnica NIRS para estimar a dixestibilidade da planta de millo, coincidindo co observado no presente traballo, como é o caso de Valdés *et al.* (1987a) que indican un satisfactorio comportamento da ecuación NIRS construída sobre unha colección de 90 mostras de planta enteira de millo con valores de DMO *in vitro* entre 60,2 e 83,8%, obtendo un baixo valor do erro de predición SEP en validación externa de ±1,60%. No estudo de Dardenne *et al*. (1993) cunha colección de 234 mostras de millo procedente de 16 variedades cultivadas en 7 centros de investigación franceses onde se realizaron medidas da DMO *in vivo*, se indica unha aceptábel calidade da predición de DMO por NIRS, con valores en validación externa de 0,65 para r^2 e de ±1,6% para SEP, concluíndo que NIRS podía substituír con avantaxe ás medidas de laboratorio por métodos de referencia *in vitro*, advertindo que a súa aplicación na práctica podía conlevar erros importantes, dados os valores de 1,7 para RPD e de 8,6 para RER, toda vez que a base

de datos non recollía todas as fontes de variabilidade, sendo necesario ampliar a colección de referencia. Resultados similares se obtiveron no traballo de De Boever *et al.* (1994) que, utilizando una colección de 319 mostras procedentes de estacións experimentais de Bélxica cun amplo rango de variabilidade no valor da dixestibilidade medida por métodos enzimáticos (DMO entre 68 e 80%), obtiveron unha ecuación NIRS que permitía a predición de DMO cun coeficiente de determinación de 0,68 en validación externa, un erro de predición SEP de ±0,8% e valores dos estatísticos RPD e RER de 1,29 e 5,31, respectivamente, sinalando que aínda que o erro de predición é baixo, a ecuación tiña unha escasa robustez, indicando a necesidade de ampliar o número de mostras. Nun estudo posterior Andrieu *et al.* (1999) revisaron os métodos dispoñíbeis nos laboratorios franceses para predicir o valor enerxético do millo forraxeiro e concluíron que NIRS permitía a realización máis precisa da predición indirecta de DMO *in vivo*, explicando entre o 75 e o 83% da varianza total, cun valor RSD de entre ±1,1 a ±1,6%, moito máis reducido que calquera outro método de laboratorio. De la Roza *et al*. (1995) reportaron unha excelente calidade das ecuacións NIRS para a predición da dixestibilidade enzimática da materia orgánica dunha colección de mostras de planta enteira de millo, con valores coeficiente de determinación R^2 de 0,91, do erro estándar de validación cruzada $SECV$ de ±1,3% e de RPD= ±3,3%. No traballo de Cozzolino *et al.* (2001) realizado sobre unha colección de 400 mostras de planta enteira de millo se conclúe, igualmente, acerca da potencialidade de NIRS para predicir a DMO tanto con propósitos de mellora de plantas como de servizo ás explotacións, obtendo valores do coeficiente de R^2 de $SECV$ de 0,98 e ±1,8%, respectivamente, moi semellantes aos obtidos no presente traballo.

A utilidade da análise NIRS para os programas de mellora xenética de millo é posto de manifesto por diversos autores, entre eles Albanell *et al.* (1995, 1997) que, traballando con mostras da parte vexetativa do millo que foran analizadas por métodos de referencia para determinar a dixestibilidade por métodos enzimáticos, reportan valores de r^2 en validación externa de entre 0,83 e 0,93 e e erro estándar de predición (SEP) de entre ±1,64 e ±3,3%, o cal coincide cos traballos doutros autores como Zimmer *et al*. (1990) que indican valores en validación cruzada de r^2 superiores a 0,90 e de $SECV$ no entorno de ±2,5% nas ecuacións NIRS para a estimación da DMO *in vitro* de mostras da fracción vexetativa de plantas de millo. Nesta liña, Campo *et al.* (1999) obtiveron ecuacións NIRS para estimar a DMO *in vitro* da parte verde da planta de millo como apoio aos traballos de mellora xenética desenvolvidos no CIAM a partir do material de variedades locais de millo do Banco de Xermoplasma,

indicando valores do coeficiente de determinación en validación externa r^2 de 0,78 e do erro de predición SEP de ±2,1%. Nesta liña, a partir dunha selección de variedades locais do Banco de Xermoplasma de millo do CIAM que pasaron a formar parte da colección nuclear europea, Brichette-Mieg *et al.* (2000) obtiveron ecuacións NIRS para estimar o valor de DMO da parte verde da planta, reportando valores do coeficiente de determinación en calibración R^2 de entre 0,82 e 0,84 e do erro estándar de calibración SEC de ±2,3 a ±2,5%, os cales foron considerados aceptábeis para a predición da dixestibilidade da parte vexetativa da planta de millo. Nun traballo posterior tamén realizado no CIAM, Campo *et al*. (2007) obtiveron ecuacións NIRS para a predición do valor de DMO de planta enteira de millo a partir dunha colección de 267 mostras cultivadas en tres ambientes e recollidas en cinco datas de maduración, indicando valores de 0,64 para R^2, de ±2,4% para $SECV$ e de 1,6 para RPD_{vc} en validación cruzada, salientando a utilidade da técnica NIRS para escoller os mellores híbridos xa que o valor de DMO non se ve afectado polo ambiente. Nunha actualización posterior das ecuacións NIRS dispoñíbeis, Campo *et al*. (2013) cualifican como aceptábel, pero claramente mellorábel, o comportamento das ecuacións NIRS para a estimación do valor de DMO *in vitro* dunha ampla colección de mostras de planta enteira de millo procedente dos traballos de mellora xenética desenvolvidos no CIAM, reportando valores do coeficiente de determinación de 0,72 para R^2, de ±2,5 para $SECV$ e de 2,2 para RPD_{vc} en validación cruzada, claramente inferiores aos obtidos no presente traballo.

5.5 – Planta enteira de sorgo e fraccións en estado fresco

Os valores medios de composición química da planta de sorgo forraxeiro indicados nas Táboas INRA (2010) entre os estados vexetativo e de grao leitoso son (en %MS) de 91,7 (88,4 a 94,1) para MO, de 11,8 (19,0 a 6,9) para PB, de 60,6 (55,7 a 60,7) para FND e de 35,3 (31,2 a 35,4) para FAD, sendo o valor medio de DMO (%) de 63,7, oscilando entre 71,0% no estado vexetativo e 60,0% no estado de grao leitoso.

Nas Táboas FEDNA (2016) se recolle un número limitado de valores para ensilaxes de sorgo, sendo os valores medios e rango de variación da composición química (en %MS) de 90,6 (89,0 a 91,9) para MO, de 9,0 (8,3 a 11,2) para PB, de 59,4 (57,1 a 61,3) para FND, de 38,1 (35,2 a 40,7) para FAD e de 6,3 (3,5 a 9,7) para ALM. O valor medio de DMO indicado nestas Táboas é de 59,8%, cunha oscilación entre 58,5 e 62,4%.

O rango de variación da composición química das mostras de planta de sorgo utilizadas no presente traballo é máis amplo que o indicado nas publicacións anteriores, con valores (en %MS) de MO entre 88,6 a 94,7, de PB entre 3,5 a 16,2, de FND entre 37,2 a 79,2, de FAD entre 16,2 a 39,1 e de ALM entre 0 a 45,4, mentres que o de DMO foi de entre 53,8 a 77,6%. A inclusión de mostras na colección procedentes de diferentes xenotipos de plantas de sorgo (incluídos os tipos *bmr*), diferentes localidades, anos e estados de colleita na colección utilizada, unido á presenza de mostras de fraccións da planta (parte vexetativa e inflorescencia) xunto co de planta enteira explican a maior variabilidade observada na poboación utilizada no presente traballo, que engloba o rango de valores usuais para esta planta citados nos diferentes traballos da bibliografía.

O reducido valor de dixestibilidade da planta de sorgo, comparativamente co millo foi sinalado por diversos traballos, entre eles o de Schmid *et al*. (1976) que citan valores medios de DMS de 55,6% para o sorgo e de 63,8 % para o millo, indicando que o sorgo ten unha menor proporción das fraccións folla e espiga e maior da fracción cana polo que presenta polo xeral un menor valor nutricional, comparado coa planta de millo. Danley e Vetter (1973) reportan para planta de sorgo no final do estado vexetativo e da planta co grao maduro un incremento da fracción fibrosa a pesar do incremento do contido de amidón no grao, con valores de FAD entre 40,0 e 53,2 %MS e de FND entre 57,2 e 73,4 %MS. Para plantas de sorgo entre inicio de emerxencia da panícula e estado de grao pastoso Black *et al*. (1980) indican valores de FAD entre 35,3 e 37,4 %MS e de FND entre 66,2 e 72,4 %MS. Entre os estados de grao leitoso e pastoso Johnson *et al*. (1971) indican valores de DMS moi semellantes (59,4 e 58,7%), mentres que no traballo de Black *et al.* (1980) se observou unha marcada redución do valor de DMS desde 65,2 % no inicio do estado de aparición da panícula até 50,3% no estado de grao pastoso. Heuzé *et al*. (2015) indican que a finais do estado vexetativo a DMO do sorgo en climas temperados é de 70-71%, descendendo até o 61% cando a floración está completa e permanecendo máis ou menos estábel tras este estado. Nun recente traballo realizado no CIAM (Pereira-Crespo *et al*., 2018a), para unha variedade de sorgo forraxeiro e outra de millo cultivados en gran parcela e recollidos aos 125 días tras a sementeira que foron avaliados *in vivo* en estado fresco se reportan valores moi semellantes de MO entre ambas especies, (97,0 e 97,6 %MS) sendo o sorgo algo máis proteico e sobre todo máis fibroso que o millo (PB: 9,8 e 7,4 %MS; FAD: 30,7 e 19,7 %MS, FND: 56,2 e 38,3 %MS) cun contido moi inferior de amidón (10,4 e 34,9 %MS) e moito menos dixestíbel (DMO: 58,3 e 70,1%), estando os valores descritos neste traballo

dentro do intervalo de valores da colección de mostras da presente Tese, menos para o contido en MO que foi algo superior no estudo citado.

Ecuacións empíricas

Marten *et al*. (1975) estudaron diversos métodos para a predición da DMO *in vivo* de ensilaxes de millo e de sorgo en base a unha colección de 51 mostras de ambas forraxes. O mellor preditor da DMO foi o contido en FAD, con valores de R^2 de 0,80 e 0,61 para as ensilaxes de sorgo e de millo, respectivamente, non sendo útil a inclusión de PB para mellorar a capacidade preditiva das ecuacións. O método da ecuación sumativa de Van Soest non proporcionaron estimacións satisfactorias da dixestibilidade do sorgo nin do millo, se ben a concentración de lignina-permanganato explicou o 74% da variación en DMO do sorgo pero só o 23% no caso do millo. Esta observación coincide co indicado por Dickerson (1986), quen reporta un coeficiente de correlación de -0,88 para a planta de sorgo e de -0,51 para a planta de millo entre o grao de lignificación da FAD e a dixestibilidade, sinalando que o maior descenso de dixestibilidade dos sorgos forraxeiros comparados co millo se atribúe ao feito de que no sorgo se incrementa a porcentaxe de lignina na FAD co avance da madurez, mentres que no millo o ratio LAD/FAD non cambia substancialmente co tempo, pasando do 10% en plantas a comezo da floración ao 12% en plantas maduras.

No presente traballo, as correlacións observadas entre DMO e a composición química das mostras son de escasa entidade, con valores do coeficiente de correlación r de 0,47 con MO, de 0,48 con CSA e de -0,47 e -0,49 con FND e FAD, respectivamente. Polo tanto, as ecuacións empíricas obtidas para a estimación da DMO da planta de sorgo, baseadas nos contidos en FAD e CSA ou en FAD e ALM, son dun poder preditivo mediocre, con baixos valores do coeficiente de correlación en validación externa r^2 entre 0,44 e 0,40 e altos erros de predición SEP de ±5,7 e ±5,5%, respectivamente.

Unha limitación adicional das ecuacións baseadas en FAD para predicir a dixestibilidade do sorgo é que poden subestimar o valor das variedades *bmr* como indican Brouk e Bean (2011). No citado traballo de Pereira-Crespo *et al*. (2018a) se indican valores medios de DMO de 61,5% e de 67,6% para variedades *bmr* e non *bmr*, respectivamente, sen diferenzas apreciábeis nos contidos en fibra, con valores medios de 32,2 e 33,1%MS para FAD e de 59,6 e 59,7 %MS para FND, respectivamente.

Ecuacións NIRS para a estimación da composición química e DMO

Os resultados das calibracións NIRS obtidas neste traballo para a predición da composición química e o valor de DMO das mostras de sorgo mostran unha excelente calidade das estimacións, con valores de $r^2 \geq 0{,}90$ e $RPD_{ve} \geq 3{,}0$ na validación externa das ecuacións sobre mostras independentes. Por outra banda, a capacidade preditiva da DMO en mostras de sorgo mediante ecuacións NIRS mostrou unha elevada superioridade en comparación coas ecuacións empíricas. Na estimación da dixestibilidade de mostras independentes, a técnica NIRS permitiu máis que duplicar a porcentaxe de varianza explicada pola mellor ecuación empírica, desde o 44% ao 90% e reducir o erro de predición case nun 70%, desde ±5,74 a ±1,73 unidades porcentuais de DMO.

En xeral, os traballos referidos na bibliografía mostran un bo comportamento das ecuacións NIRS para a estimación do valor nutricional da planta de sorgo, o que se corresponde cos nosos resultados. Nun traballo con mostras de ensilaxes de sorgo de Kansas (USA), Dubois *et al.* (1989) reportaron que NIRS podía ser usado satisfactoriamente para predicir o contido de PB, FAD e FND, reportando valores de r^2 e SEP, en validación externa, de 0,86 e ±0,41% para PB, de 0,86 e ±1,75% para FAD e de 0,92 e ±1,83% para FND. Sen embargo os correspondentes valores de RPD_{ve} neste traballo foron de 1,9, 1,9 e 1,2 para as ecuacións de predición de PB, FAD e FND, respectivamente, o que suxire escasa robustez das ecuacións, que mostran un poder preditivo baixo para os dous primeiros parámetros e moi pobre para o último. Snyman e Joubert (1993) desenvolveron calibracións NIRS para estimar a composición química e a dixestibilidade *in vitro* dun conxunto de forraxes sudafricanos e reportan unha satisfactoria capacidade preditiva dos contidos de PB, FAD e DMO en mostras de sorgo e mesturas con millo-perla (*Pennisetum typhoides*) con valores en validación externa de $r^2 \geq 0{,}90$ e $RPD_{ve} \geq 3{,}0$, sendo a predición de FND menos precisa ($r^2 = 0{,}61$ e $RPD_{ve} = 1{,}5$). Budiongo *et al*. (1996) obtiveron, en base a un colectivo de 67 mostras de ensilaxes de sorgo procedentes de granxas de Kansas (USA), ecuacións NIRS cun coeficiente de determinación para validación externa e do erro de predición SEP de, respectivamente, 0,91 e ±0,39% para PB, de 0,91 e ±1,50% para FND e de 0,95 e ±0,92% para FAD.

É posíbel encontrar traballos nos que a estimación do valor de DMO da planta de sorgo por NIRS non é satisfactoria. Por exemplo, Hicks *et al*. (2002) estudaron a utilidade da técnica para estimar o valor nutricional de liñas puras de sorgo granífero no marco de traballos de mellora xenética, reportando que mentres a predición do contido en PB era realizada de forma precisa por NIRS, non era satisfactoria a predición do valor de DMO *in vitro* das

mostras, con valores de RPD_{vc} en validación cruzada de 2,3 e 1,0, respectivamente. Sen embargo, dado o baixo valor medio reportado para DMO (38,9%), a pouca fiabilidade da ecuación NIRS cabería atribuíla a erros nas determinacións realizadas polo método de referencia, sen descartar a baixa variabilidade da colección para este parámetro. Noutro traballo, Khaleduzzaman *et al.* (2013) desenvolveron calibracións NIRS para estimar a composición química e a dixestibilidade da materia orgánica (medida pola técnica de produción de gas) de Sorgo x Pasto do Sudán en Bangladesh, cunha poboación de 90 mostras que incluían diferentes niveis de fertilización e estados fenolóxicos. As ecuacións NIRS mostraron valores do coeficiente de determinación e do estatístico RPD_{vc} en validación cruzada de, respectivamente, 0,83 e 4,3 para PB, de 0,74 e 2,9 para FAD, de 0,67 e 4,6 para FND, e de 0,60 e 2,3 para DMO, indicando unha aceptábel predición dos parámetros químicos pero unha mediocre calidade da estimación de DMO.

Kański *et al*. (2013) estudaron a utilidade de NIRS para estimar a dixestibilidade *in vivo* da materia orgánica de ensilaxes de sorgo a partir dunha colección de 58 mostras que incluían ensilaxes de planta enteira de sorgo e mesturas con outras materias primas. O valor do coeficiente de determinación en calibración para a estimación de DMO foi de 0,83 e os de SEC e $SECV$, respectivamente, foron de ±4,4 e ±4,8%, en tanto que o valor RPD_{vc} en validación cruzada foi de 2,4, concluíndo os autores que NIRS permite a predición directa do valor DMO das ensilaxes de sorgo, se ben neste traballo non se realizou a proba de validación externa, ao igual que no estudo de Park *et al*. (2015) onde se indica unha aceptábel capacidade preditiva mediante ecuacións NIRS dos contidos de PB, FAD e FND de ensilaxes de sorgo analizadas en estado fresco, con valores do coeficiente de determinación en validación cruzada ($1 - VR$) de entre 0,86 e 0,88 e de RPD_{vc} entre 2,0 e 2,3, sendo de menor calidade a estimación do contido en CZ, con valores de $1 - VR$ de 0,62. Nun traballo máis recente realizado en Arxentina cunha ampla colección de mostras de planta enteira de sorgo e de millo e das diferentes fraccións morfolóxicas que as compoñen, Juan *et al*. (2016a) reportaron unha excelente capacidade preditiva das calibracións NIRS para a estimación dos contidos en PB e FND e da dixestibilidade da materia seca das mostras (calculada esta mediante a ecuación DMS% = 88,9 – 0,779 FAD %MS) cun alto valor da varianza explicada en calibración (96-97%) e con valores do erro estándar de predición $SECV$ e de RPD_{vc} en validación cruzada de ±0,54% e 5,6 para PB, de ±2,51% e 5,0 para FND e de ±1,4 e 5,1 para DMS.

5.6 – Planta enteira de xirasol e fraccións en estado fresco

Estudos realizados en Francia a comezos do último terzo do século pasado sobre o valor nutricional da planta de xirasol (Demarquilly e Andrieu, 1972), indican valores de dixestibilidade do 70 a 75 % ao comezo da floración e do 60 ao 75 % para a planta en estado de gran pastoso. No traballo de Harper *et al.* (1981) realizado en Gran Bretaña se avaliou a composición química e a DMO *in vitro* da materia orgánica da planta de xirasol ao longo de 12 semanas tras a floración, observándose un significativo aumento no contido de fibra bruta e unha forte redución da dixestibilidade entre a primeira e última semana de corte, con valores de FB (%MS) de 20,8 a 33,0 e de DMO (%) de 76,6 a 56,9, respectivamente. Pola súa banda, Rezende *et al*. (2002) avaliaron tres variedades recollidas a idades de 95, 110 e 125 días tras a sementeira, observando que a dixestibilidade se reducía rapidamente coa idade da planta, desde o 62,9% aos 95 días até o 49,4% aos 125 días. Traballos máis recentes (Peiretti e Meinieri, 2010) indican valores de DMO próximos ao 60 % para a planta en plena floración.

Mafakher *et al*. (2010) estudaron a composición do xirasol en distintos estados fenolóxicos, indicando que desde o estado vexetativo se reduce o contido en proteína e aumenta o de fibra até o final da floración para descender posteriormente conforme se produce o enchido dos graos, mentres o valor da dixestibilidade evoluciona de forma inversa ao da fibra, citando para os estados de inicio de floración, floración completa e sementes co grao pastoso valores do contido en PB de 15,1, 13,3 e 12,8 %MS, para o contido en FB de 32,2, 35,5 e 32,7 %MS e para o valor de DMO *in vitro* de 63,5, 64,8 e 62,7%. Outros traballos mostran resultados lixeiramente diferentes, como o de Erdoğan e Demirel (2016) que indican para ensilaxes de xirasol recollido nos estados de floración, grao leitoso e grao pastoso valores medios (en %MS) de 13,1, 11,9 e 11,7 para PB, de 40,6, 37,9 e 41,0 para FAD e de 57,4, 53,6 e 58,5 para FND, mostrando un menor contido en fibra entre a floración e o estado de grao pastoso.

Os resultados obtidos no presente traballo mostran un menor valor nutricional medio da planta de xirasol en comparación co observado para a planta de millo, o cal coincide coa maior parte dos estudos reportados na bibliografía por outros autores. Por exemplo, Valdez *et al.* (1988) indicaron valores de DMS *in vivo* de 69,6 e 57,4% para unha variedade de millo forraxeiro e unha variedade oleífera de xirasol, atribuíndo esta diferenza, ademais de ao maior contido en FAD e LAD do xirasol, ao efecto depresor da dixestibilidade das paredes celulares causado polo maior contido en EE desta planta (11,3 %MS) comparado co

do millo (4,0% MS). Tomich *et al.* (2004) avaliaron as ensilaxes de 13 cultivares de xirasol producidas con plantas contendo máis de 90% de graos maduros, reportando valores medios de DMS *in vitro* de 49,1% (rango 41,1 a 56,7%) indicando que o baixo valor da dixestibilidade podería estar relacionado co estadio avanzado da colleita ou coa interferencia do contido en EE inhibindo a dixestibilidade da fibra. Neste sentido, Valdez *et al.* (1988) encontraron incrementos na DMS e DFND *in vitro* cando se extraera o aceite das mostras de ensilaxes de xirasol, de forma proporcional ao contido inicial de extracto etéreo da ensilaxe.

Avaliacións realizadas no CIAM no pasado século por distintos investigadores (Memorias CIAM, 1983-1991) mostran que os valores medios (e rango de variación) dos contidos en PB, FAD e DMO *in vivo* da planta enteira de xirasol colleitada entre os 44 e 130 días tras a sementeira eran, para PB 10,2 %MS (6,1-17,5), para FAD 38,4 %MS (28,1-50,0) e para DMO *in vitro* 64,4% (72,0-55,7). Nas Táboas INRA (2010) os valores medios e rango de variación da composición química que se indican entre os estados final do período vexetativo e capítulo marrón foron (en %MS) para MO de 86,9 (84,2 a 89,1), para PB de 13,3 (10,5 a 16,5), para FND de 40,4 (38,0 a 42,4) e para FAD de 27,5 (24,6 a 30,7), mentres que para a DMO o valor medio foi de 67,7 %, oscilando entre 76,0 e 62,0%.

Outros estudos máis recentes realizados no CIAM en distintos anos con variedades forraxeiras e de aceite utilizadas para forraxe (Flores *et al*., 2016; Sainz-Ramírez *et al*., 2017) mostraron, de media, que entre a semana 2 a 6 tras a floración o contido en EE da planta aumentaba de 2,3 a 17,0 %MS, mentres que o de CSA descendía de 22,4 a 8,4 %MS conxuntamente co valor de DMO que se reducía de 66,4 a 52,7%. Noutro traballo realizado no CIAM por Sainz-Ramírez *et al*. (2020) onde se avaliou o comportamento agronómico e nutricional dunha variedade forraxeira de xirasol cortada para ensilar entre o estado de floración e o de sementes co grao pastoso catro semanas máis tarde, se reporta que co avance da madurez da planta diminuíron os valores de PB (de 9,4 e 8,6 %MS) de CSA (de 16,9 a 10,6 %MS), de FND (de 41,8 a 36,8 %MS) e de DMO (de 67,0 a 58,4%).

Os rangos de valores de composición química para as mostras da planta enteira de xirasol utilizadas no presente traballo (en %MS, MO: 80,7 a 92,7; PB: 5,9 a 16,6; FND: 32,0 a 52,2; FAD: 23,9 a 40,2; LAD: 4,7 a 11,9; EE: 1,4 a 44,1; CNET: 4,0 a 23,3) así como os de DMO (48,9 a 69,1%) son comparábeis aos valores reportados pola maior parte dos traballos revisados, mostrando a variabilidade da colección utilizada para a construción dos modelos de predición. As táboas de alimentación francesas parecen corresponderse con planta de

xirasol recollida en estados vexetativos menos avanzados que os incluídos nesta colección, mostrando valores superiores de PB e DMO e inferiores de fibra, lignina e extracto etéreo. Adicionalmente, a comparación de resultados en relación á dixestibilidade do xirasol se ve dificultada porque cando as estimacións de dixestibilidade son determinadas *in vitro* con líquido ruminal con mostras de alto contido en aceite (>4% MS no presente estudo), é aconsellábel que se realicen con material desengraxado para evitar a influencia negativa dun contido alto en graxa da mostra sobre a viabilidade do inóculo ruminal durante a determinación, o cal non é sempre indicado nos traballos realizados. No noso caso, tendo constatado que a incubación de mostras de planta enteira e de capítulos de xirasol con máis do 4% de EE producían resultados erráticos na determinación da dixestibilidade *in vitro* con líquido ruminal, tal como se indicou no apartado de material e métodos, ditas mostras eran previamente desengraxadas con éter de petróleo antes de seren analizadas polo método de referencia, conseguindo desta forma resultados máis consistentes.

Ecuacións empíricas

Non se atoparon na bibliografía traballos nos que se faga referencia á obtención de ecuacións químicas para a predición da DMO da planta de xirasol en estado fresco ou ensilada. As ecuacións de predición de DMO baseadas na composición química das mostras que foron obtidas no presente traballo mostraron en conxunto un pobre comportamento preditivo. A gran diversidade das mostras da colección de calibración, onde se integraron fraccións da planta xunto con mostras de planta enteira é causa do relativamente elevado valor do coeficiente de determinación en calibración (R^2 superior a 0,70 para os dous mellores modelos) que non evita un alto erro de predición, próximo a ± 6% en validación cruzada e que ascende até ±8% en validación externa, mostrando que no conxunto de calibración a variabilidade da poboación de mostras independentes non estaba suficientemente representada.

Ecuacións NIRS para a estimación da composición química e DMO

Os modelos construídos no presente traballo para a estimación do valor nutricional do xirasol en estado fresco mostraron unha boa calidade na predicións do contido en contidos de PB, FND, CEL, EE, CNET e CSA das mostras, así como do valor de DMO, permitindo realizar predicións cuantitativas con alta fiabilidade sobre mostras independentes, sendo algo inferior para a estimación de MO e FAD, mentres que carece de utilidade a ecuación para a predición de LAD. Unha posíbel razón dos baixos valores para a estimación de LAD se relacionan coa

falta de precisión nas análises dos valores de referencia, dificultado polo alto contido en aceite das mostras colleitadas en estados de madurez avanzada, aspecto resaltado por Demarquilly e Andrieu (1992), entre outros autores.

Os traballos encontrados na bibliografía reportan, en xeral, unha boa calidade das predicións NIRS para estimar os contidos en PB, EE e CSA, sendo máis variábel o resultado na predición do resto dos parámetros. Fassio *et al*. (2007) estudaron a posibilidade de predicir a composición química e a dixestibilidade da planta de xirasol en estado fresco e como ensilaxe mediante NIRS utilizando un total de 73 mostras frescas e 50 ensiladas obtidas nunha estación experimental de Uruguai. Para as mostras frescas e ensiladas as estimacións máis precisas se obtiveron para PB (R^2> 0,85; $SECV$= ±0,99 e ±1,01%, RPD= 2,9 e 2,3) e CZ (R^2> 0,85; $SECV$= ±1,1 e ±0,82%; RPD 2,2 e 2,9). A predición de EE (feita só en ensilaxes) foi moi precisa, con valores de R^2= 0,94, $SECV$= 1,5 e RPD= 4,4, sendo mediocre a calidade da predición da concentración de FAD e FND, con valores de R^2< 0,70 e de RPD< 2,0. Os autores salientan a dificultade de conseguir calibracións robustas (RPD> 3) para predicir a composición química do xirasol.

Nun recente traballo, Saha *et al*. (2017) estudaron a utilidade das calibracións NIRS para predicir un amplo rango de parámetros de composición química de plantas de soia e de xirasol e das súas fraccións follas e inflorescencias, utilizando 48 mostras de plantas, follas e partes reprodutivas en diferentes estados de madurez de xirasol (n=72) e de soia (n=48). A fiabilidade dos modelos de predición, aplicada á análise de mostras independentes, foi excelente (r^2 >0,90 e RPD >3,0) para estimar os contidos de CZ, PB, EE, LAD e CSA, sendo aproximada (r^2 entre 0,80 e 0,66 e RPD entre 2,5-2,0) para FAD, FND e CEL, sendo pobre e por tanto non utilizábel (r^2 <0,66 e RPD <2,0) para ALM. Os resultados mostraron que os mesmos modelos se poden aplicar para cuantificar adecuadamente a composición nutricional de ambas forraxes e que se poden utilizar, de forma fiábel, na análise de rutina sobre mostras externas.

A capacidade preditiva da DMO en mostras de xirasol mediante modelos NIRS que observamos no presente traballo mostrou unha categórica superioridade en comparación cos modelos empíricos. Así a técnica NIRS, na etapa de validación externa, mostrou un coeficiente de determinación máis elevado (0,66 vs. 0,94) e unha redución do erro de predición nun 60% respecto do mellor modelo de ecuacións empíricas, pasando de ±8,25 a ±3,23%. A dificultade de obter correlacións consistentes entre DMO e os constituíntes químicos é sinalada no traballo de Andrieu *et al*. (1981) onde na exposición de valores

nutricionais de forraxes franceses indica que só se poden dar valores medios de referencia para a DMO da planta de xirasol, que cifran en 76% no final do estado vexetativo e en 64% para o estado de sementes co grao consistente.

No traballo de Fassio *et al.* (2007) o erro de predición en validación cruzada ($SECV$) da ecuación NIRS para a estimación do valor de DMO das mostras de xirasol fresco foi de ±2,1%, mostrando unha aceptábel precisión, mentres que resultou máis elevado o valor de $SECV$ para as mostras de xirasol ensilado (±3,5%). Os valores do coeficiente de determinación en calibración (R^2) e o valor do estatístico RPD_{vc} en validación cruzada foron de 0,61 e 2,8 para as ecuacións de estimación de DMO en mostras frescas e de 0,83 e 2,1 para as mostras ensiladas. O valor de $SECV$ obtido no presente traballo (±2,5%) é algo máis elevado que o reportado polos citados autores para mostras frescas, pero tanto o coeficiente de determinación en calibración (R^2= 0,97) como o valor de RPD_{vc} en validación cruzada (4,8) mostraron un mellor comportamento preditivo das ecuacións NIRS construídas sobre a colección de mostras de planta enteira de xirasol e as súas fraccións. Este traballo demostra que é posíbel predicir por NIRS as características químicas e a dixestibilidade de mostras incluso cando o contido en aceite é alto como é o caso do xirasol nun estado avanzado de madurez.

5.7 – Ensilaxes de herba

Nas explotacións leiteiras de Galiza as ensilaxes máis habituais son de raigrases e de prados permanentes, realizados mediante presecado curto e sen conservante, con presenza dunha proporción variábel de especies leguminosas (Flores *et al*., 2017). O traballo de Pereira-Crespo *et al*. (2015a) proporciona información acerca da composición das mostras de ensilaxes de herba que, procedentes de explotacións leiteiras galegas, foron analizados no LIGAL durante un período de 25 anos, indicando valores medios (en % MS) de 90,0 para MO, de 12,9 para PB, de 56,0 para FND e de 37,5% para FAD, sendo a media do valor de DMO de 64,6%. O parámetro máis variábel entre os valores medios anuais é o contido en PB, seguidos dos contidos en fibra, do valor de DMO e finalmente do contido en MO.

Os datos de composición química e dixestibilidade da materia orgánica que se ofrecen nas Táboas INRA (2010) para as ensilaxes de primeiros cortes de especies pratenses sen conservante, presecado curto e picado fino mostran valores medios (e rango de variación) para as especies gramíneas (en %MS) de 90,7 (85,3 a 93,0) para MO, de 12,5 (9,0 a 19,0)

para PB, de 54,2 (51,1 a 57,7) para FND e de 32,0 (28,8 a 34,6) e 31,3 (29,5 a 33,0) para FAD e para as especies leguminosas de 88,7 (87,8 e 89,2) para MO, de 18,0 (17,1 a 19,0) para PB, de 44,6 (43,2 a 46,0) para FND e de 31,3 (29,5 a 33,0) para FAD, reproducindo o menor contido en MO e FND e maior valor de PB típico das especies leguminosas en comparación coas gramíneas e as mesturas con predominio destas. En canto aos valores de DMO foron de 72,4% de media (rango 67,0 a 79,0%) para as ensilaxes de gramíneas e pradeiras permanentes, superiores ao das ensilaxes de leguminosas, que mostraron un valor medio de 69,5% e un rango de variación de 65 a 73%. Os valores medios e rango de variación da composición química (en %MS) e da dixestibilidade da materia orgánica (en %) que se indican nas Táboas FEDNA (2016) para ensilaxes de herba de pradeira son de 88,9 (84,5 a 90,9) para MO, de 13,7 (9,5 a 18,6) para PB, de 54,5 (39,2 a 68,7) para FND, de 36,8 (27,1 a 48,6) para FAD, de 6,3 (4,3 a 8,0) para LAD e de 60,9 (52,2 a 69,3) para DMO.

A colección de ensilaxes de herba utilizada no presente traballo estaba composta maioritariamente por ensilaxes realizados sobre a produción de pradeiras en primeiros e segundos cortes, así como de cultivos anuais de raigrases e trevos que rotaban co millo, xunto con mostras de triticale, de chícharo e mesturas de ambas especies. Os valores medios (en %MS) da composición química desta colección para MO (88,7), de PB (12,8), FND (53,9), FAD (37,3) e LAD (6,1) son semellantes aos da serie de mostras recibidas das explotacións leiteiras de Galiza e os das Táboas FEDNA (2016). O valor medio de DMO da nosa colección (66,9%) é tamén semellante ao da serie de mostras do LIGAL e claramente superior ao das citadas táboas, indicando probabelmente un diferente método de estimación. O traballo de Flores *et al*. (2005) sobre métodos de laboratorio para a predicción da DMO *in vivo* de mostras de ensilaxes de herba indica valores medios de composición química (en %MS) de 88,4 para MO, 13,1 para PB, 54,4 para FND, 37,1 para FAD, 6,3 para LAD e de 67,9% para DMO, moi semellantes aos da colección de ensilaxes de herba utilizados no presente traballo, toda vez que parte das mostras foron compartidas en ambas investigacións.

Ecuacións empíricas

Os mellores modelos químicos multivariábeis obtidos no presente traballo para a predición da DMO da colección de ensilaxes de herba estaban baseados nos contidos de PB, LAD e FND ou de PB, LAD e FAD, mostrando valores do coeficiente de determinación en calibración R^2 entre 0,60 e 0,55, do erro estándar de calibración SEC de ±4,3 e ±4,6%, do erro de validación cruzada $SECV$ de ±4,4 e ±4,7%, do coeficiente de determinación en validación externa r^2 de 0,50 e 0,47 e do erro de predición SEP de ±4,6 e ±4,7%. Estes resultados son comparábeis

cos reportados por diversos autores que poñen de manifesto, en xeral, a reducida calidade das ecuacións empíricas baseada en parámetros químicos para a predición de DMO de ensilaxes, con valores dos erros de predición no entorno de 4-5 unidades porcentuais, próximos aos obtidos no presente traballo, sobre todo cando as ecuacións se obteñen a partir de coleccións con alto número de mostras.

Aerts *et al*. (1977) para unha colección de 56 mostras de ensilaxes de herba, indican valores do coeficiente de determinación en calibración de 0,68, de 0,65 e de 0,78 para ecuacións de regresión baseadas en FB, FAD e lignina, respectivamente, mentres que noutro traballo Jarrige (1980) indica valores de RSD de entre ±4,4 e ±5,9% para ecuacións de estimación de DMO de ensilaxes de herba (n=26) baseadas en FB e FAD, respectivamente. As ecuacións baseadas en FAD modificada (Clancy e Wilson, 1966) e en lignina (método acetil-bromuro, de Morrison, 1972a,b) explicaron, respectivamente, o 34% e o 52% da varianza de DMO con RSD de ±5,1 e ±4,4%. Nun estudo realizado sobre unha colección de mostras máis ampla de ensilaxes de herba do Reino Unido (n=124), Givens *et al*. (1989) reportan valores do coeficiente de determinación r^2 e do erro de predición en validación externa SEP de 0,27 e ±5,1% para a ecuación baseada en FB, de 0,32 e ±5,0% para a baseada en FAD e de 0,22 e ±5,4% para a que usaba a concentración de lignina como único preditor. Nun posterior traballo con ensilaxes de herba da mesma procedencia, Barber *et al*. (1990) indicaban para dúas ecuacións baseadas, respectivamente, en FAD modificada e en LAD, valores de 0,34 e ±5,1% e de 0,52 e ±4,4% para R^2 e RSD en calibración e de 0,20 e ±5,1% e de 0,14 e ±5,3% para o coeficiente de determinación r^2 e o erro de predición SEP en validación externa sobre un conxunto de mostras independentes. Para ensilaxes de herba belgas, De Boever *et al*. (1996) reportan valores do coeficiente de determinación R^2 de 0,53 e un erro de predición $SECV$ de ±3,3% en validación cruzada para a estimación do valor de DMO utilizando unha ecuación baseada no contido en lignina acetil-bromuro, mentres que o uso de ecuacións NIRS permitía incrementar o valor do coeficiente de determinación até 0,79 e reducir o de $SECV$ a ±2,2% en validación externa. A validación das calibracións NIRS obtidas por Barber *et al*. (1990) con ensilaxes do Reino Unido aplicadas ás ensilaxes belgas mostraron unha pobre relación (R^2= 0,49), atribuída so maior contido en cinzas das ensilaxes belgas e que proba a necesidade de validar os modelos de predición e de desenvolver calibracións a partir de coleccións de mostras que integren a variabilidade que é posíbel encontrar nas condicións de aplicación das ecuacións.

Na revisión da información xerada durante 25 anos no Instituto de Nutrición Animal de Gante (Bélxica), De Boever *et al.* (1999) reportan que unha ecuación de predición de DMO baseadas en LAD permitían explicar o 48% da varianza indicando que o valor de DMO diminuía 5,9 unidades por cada incremento do 1% en LAD na materia seca. Cando ademais de LAD na ecuación se incluían FAD e FND cada parámetro explicaba un 10% adicional de varianza. A ecuación con LAD, FAD e FND explicou por tanto un 68% da varianza total. Sen embargo, o uso de FAD e FND na mesma ecuación é cuestionábel, a causa da forte intra-correlación entre ambos parámetros. Os erros mínimos de predición para valores próximos á media, medidos polo valor RSD, oscilaron entre ±2,9 e ±3,9% e o ratio entre o valor de SD da colección (5,0) e RSD foi de entre 1,2 e 1,7 para as ecuacións empíricas co que a precisión das ecuacións para a estimación de DMO cabe cualificala de mediocre, sendo este valor comparábel cos obtidos no presente traballo para o mesmo ratio, que foi de 1,6 para o modelo baseado en PB, LAD e FND e de 1,5 para o modelo baseado en PB, LAD e FAD como preditores.

Nousiainen *et al*. (2003b) estudaron a relación entre a DMO *in vivo* de 63 ensilaxes de herba de primeiro e segundo ciclo de Finlandia, indicando que a composición química da forraxe estaba significativamente correlacionada coa dixestibilidade, pero as ecuacións de regresión univariábel baseadas en parámetros químicos mostraron un erro superior a ±4 unidades porcentuais de DMO, que foi considerado demasiado alto para ser de utilidade na práctica, mellorando lixeiramente a precisión da estimación cando se utilizaban ecuacións específicas para as ensilaxes de primeiro corte e os rebrotes, por separado.

A partir dunha mostra de 136 ensilaxes de herba de explotacións leiteiras de Irlanda do Norte seleccionados en función da calidade fermentativa e concentración enerxética, Yan e Agnew (2004) investigaron a relación entre a DMO *in vivo* da materia orgánica e a composición química das ensilaxes, reportando que as ecuacións de regresión baseadas en PB, FAD e FND como únicos preditores mostraron valores do coeficiente de determinación en calibración R^2 de, respectivamente, 0,32; 0,38 e 0,60, sinalando que o incremento en 1 unidade do valor de FAD ou de FND (en %MS) reducía o valor de DMO en aproximadamente 1 unidade porcentual. Descensos similares foron indicados noutros traballos. Por exemplo, Givens *et al*. (1989) e Nouisianen *et al*. (2003a) indican que incrementos de 1 ud na concentración de FAD ou FND en mostras de ensilaxes de herba reducían o valor de DMO en 0,6 e 0,7 unidades en silos horizontais, mentres que en silos de rotopacas dito descenso era de 0,71 a 0,99 (Givens *et al*., 1993b). No presente traballo, as ecuacións de predición univariábeis baseadas en FAD

ou FND mostraron coeficientes de -0,80 e de -0,52 para ditos parámetros, comparábeis aos indicados polos autores anteriormente citados, pero estas ecuacións mostraron un baixo coeficiente de determinación R^2 (0,29 e 0,27) e un alto valor de RSD (±6,2 e ±6,3%), mostrando a carencia da súa utilidade preditiva na práctica.

Para ensilaxes de herba avaliados *in vivo* no CIAM, Flores *et al*. (2005) reportan valores de R^2 e de RSD de ecuacións de regresión univariábeis para a estimación de DMO de, respectivamente, 0,29 e ±5,7% para FAD como preditor e de 0,44 e ±5,0% para FND ou PB como únicos parámetros da ecuación. Para modelos multivariábeis, unha ecuación con FAD e PB conseguía explicar o 53% da varianza de DMO cun RSD de ±4,6%, mentres que a substitución de FAD por FND e a inclusión de LAD na ecuación aumentaba en 10 puntos a varianza explicada (R^2= 0,63) e diminuía o erro de calibración en 0,4 unidades, obténdose un valor de RSD de ±4,2%. Comparados con estes resultados, a precisión das ecuacións químicas obtidas no presente traballo é lixeiramente superior, en liñas xerais.

Na publicación das Táboas INRA (2010) se ofrecen ecuacións de predición para a estimación da dixestibilidade da materia orgánica de ensilaxes de herba a partir dos contidos en fibra. As ecuacións univariábeis para estimar DMO de ensilaxes de gramíneas (n=65) baseadas en FB e FAD mostraron valores de R^2 que oscilaron entre 0,60 e 0,63 e de RSD entre ±3,8 e ±4,0%. Para mostras de ensilaxes de pradeira permanente os respectivos valores de R^2 e de RSD foron, respectivamente, de 0,40 e ±2,0%, pero o número de observacións da colección (n=26) é baixo. O mesmo cabe dicir das ecuacións para ensilaxes de leguminosas (n=17), con valores de R^2= 0,79 e RSD= ±1,8, sendo a precisión destas ecuacións aparentemente superior á obtida no presente traballo, se ben o número de mostras é considerabelmente inferior e non se presentan estatísticos de validación.

Ecuacións NIRS para a estimación da composición química e DMO

As ecuacións NIRS obtidas no presente traballo mostraron unha boa calidade (RPD>3) para a estimación da concentración de PB, de FND e de FAD das mostras de ensilaxes de herba, permitindo a realización dunha predición cuantitativa, sendo de calidade aceptábel (RPD entre 2,5 e 3,0) para MO e mediocre para CEL (RPD entre 1,5 e 2,0). Sen embargo, as ecuacións NIRS para estimar os contidos de FB e LAD, con valores de (RPD<1,5) se consideraron sen utilidade preditiva.

No traballo de De Boever *et al*. (1996) se puxo de manifesto o que potencial de NIRS para predicir a composición química de ensilaxes de herba é alta para estimar PB, CSA e FB

(*RPD*>3,0), moderada para CZ, FND e FAD (*RPD* entre 2,5 e 3,0) e baixa para LAD (*RPD*= 2,0), indicando que a baixa fiabilidade da ecuación de estimación de LAD estaría probabelmente relacionada coa pequena variación deste parámetro na colección de mostras. Nun traballo posterior, Park *et al*. (1998) examinaron o potencial de NIRS para determinar a composición química, a dixestibilidade e os parámetros fermentativos de ensilaxes de herba presentados en estado fresco, utilizando un conxunto de 136 mostras de dixestibilidade *in vivo* coñecida, procedentes de granxas de Irlanda do Norte. A técnica NIRS permitiu predicir os principais parámetros químicos con alta precisión, obtendo valores do coeficiente de determinación e do estatístico RPD_{vc} en validación cruzada de 0,87 e 2,8 para CZ, 0,94 e 4,8 para PB, 0,93 e 4,7 para FND, 0,90 e 3,5 para FAD e 0,84 e 3,0 para LAD. Lundberg *et al*. (2004) investigaron a utilidade de NIRS para estimar os parámetros requiridos polas ecuacións sumativas comunmente utilizadas para predicir a dixestibilidade de forraxes, así como para estimar directamente a dixestibilidade *in vitro* de ensilaxes. Para ensilaxes de herba, as ecuacións NIRS mostraron unha satisfactoria capacidade preditiva para a estimación dos contidos en PB, FAD e FND, con valores do coeficiente de determinación en calibración R^2> 0,90 e do estatístico RPD_{vc}> 3,0 en validación cruzada, sendo de mediocre calidade para o contido de CZ (R^2= 0,82 e RPD_{vc}= ±2,1%).

Como resumo dos resultados dos traballos de investigación referidos á capacidade preditiva mediante ecuacións NIRS da composición química de ensilaxes de herba realizados por O'Keefe *et al*. (1987), Corson *et al*. (1999), Villamarín *et al*. (2002), Znidaršic *et al*. (2006), Ibañez e Alomar (2008), Restaino *et al*. (2009) e Dias (2015), que foron citados no apartado de revisión bibliográfica do presente traballo, a calidade da predición NIRS dos diferentes parámetros, ordenada da maior a menor en función do coeficiente de determinación en calibración e do estatístico RPD en validación cruzada ou externa, foi máis elevada para PB (R^2= 0,93; *RPD*= 4,0), seguida de FND e FAD (R^2= 0,89 e 0,91; *RPD*=3,3 e 3,5), de CZ (R^2= 0,84; *RPD*= 2,4) e de LAD (R^2= 0,51; *RPD*= 1,2), indicando unha boa calidade para as ecuacións de predición dos contidos en proteína e fibra, moderada para o de CZ e pobre para LAD, o que coincide coas nosas observacións.

A ecuación NIRS seleccionada para a predición de DMO no presente traballo mostrou un valor do coeficiente de determinación en validación externa de 0,89 e un erro de predición de ±2,8%, sendo categorizada como útil para realizar predicións cuantitativas en mostras independentes tendo en conta o valor de *RPD* (>2,5) e de *RER* (>10) seguindo o criterio de Williams e Sobering (1996). Por outra parte, refrendando a maior parte dos resultados obtidos

por outros autores que compararon ca capacidade preditiva das ecuacións NIRS coas ecuacións empíricas baseadas en parámetros químicos para a predición de DMO de ensilaxes de herba, os nosos resultados evidencian a superioridade de NIRS a este respecto, toda vez que a ecuación NIRS seleccionada mostrou un coeficiente de determinación en validación externa claramente máis elevado (0,50 vs. 0,89) e unha redución do erro de predición de case un 40% respecto do mellor modelo de ecuacións empíricas, pasando dun valor de SEP de ±4,65 a ±2,83%.

Os bos resultados obtidos no presente traballo na estimación da DMO de ensilaxes de herba mediante o uso de NIRS son comparábeis aos referidos na bibliografía por diversos autores. Por exemplo, Biston e Dardenne (1985) para unha colección de forraxes frescos e de ensilaxes procedentes da rexión de Valonia (Bélxica), obtiveron ecuacións que permitiron estimar satisfactoriamente os valores de PB e DMO con erros de predición de entre ±0,9 a ±1,13% e de entre ±2,0 a ±2,5%, respectivamente. Para unha colección de ensilaxes de herba procedentes de granxas comerciais da república de Irlanda, O´Keefe *et al*. (1987) obtiveron un erro de predición en validación externa de ±2,96% para a estimación da DMO *in vitro*, algo máis elevado que o observado no noso traballo. Martínez-Fernández *et al*. (1990) desenvolveron ecuacións NIRS de aceptábel calidade para estimar os contidos en CZ, PB e FND de mostras secas de ensilaxe de herba do litoral de Asturias e observaron unha menor exactitude na predición da dixestibilidade enzimática, obtendo un erro de predición SEP de ±3,9% cando o modelo NIRS se aplicaba na etapa de validación externa de mostras de ensilaxes de herba de diversos países europeos. De forma similar, utilizando unha colección de 170 ensilaxes de herba de distinta procedencia do Reino Unido con valores de DMO *in vivo* coñecida, Barber *et al*. (1990) obtiveron ecuacións NIRS que permitiron explicar o 85% da variabilidade de DMO cun erro de predición de ±2,5 unidades porcentuais, concluíndo que NIRS é a técnica máis exacta e repetíbel para a predición da dixestibilidade *in vivo* de ensilaxes de herba.

Resultados semellantes, tamén no Reino Unido, foron obtidos poucos anos máis tarde por Baker *et al*. (1994) que, partindo dunha colección de 182 ensilaxes de herba de DMO *in vivo* coñecida, obtiveron ecuacións NIRS que, en validación externa, permitiron explicar un 82% da varianza e estimar DMO cun erro de predición de ±2,3%, inferior ao obtido no noso traballo. Utilizando 64 ensilaxes de herba da rexión belga de Valonia, de DMO *in vivo* coñecida, De Boever *et al*. (1996) compararon o potencial preditivo de parámetros químicos, dixestibilidade *in vitro* (celulasas, Tilley-Terry) e NIRS, concluíndo que o mellor preditor

simple de DMO *in vivo* é NIRS, obtendo aproximadamente a mesma exactitude comparado coa mellor regresión múltiple que incluía a determinación da dixestibilidade *in vitro* por métodos de referencia conxuntamente con parámetros químicos como preditores.

Para unha colección de 136 ensilaxes de herba de Irlanda do Norte cun rango de valores de DMO *in vivo* de 53,1 a 80,7%, Park *et al*. (1997) reportan unha aceptábel calidade das ecuacións NIRS para a predición da DMO *in vivo*, con valores do coeficiente de determinación en validación cruzada de entre 0,85 e 0,91, de ±2,15 e ±2,74 % para o erro de predición $SECV$, de 2,60 a 3,31 para o valor de RPD_{vc} e de 10,0 a 12,8 para o de RER_{vc}. Posteriormente, Park *et al*. (1998), con ensilaxes da mesma zona presentados ao instrumento en estado fresco, obteñen unha aceptábel ecuación NIRS para a estimación da DMO que mostrou valores de r^2 de 0,85, SEP de ±2,3% e RPD_{ve} de 2,5, considerada de utilidade para a predición da dixestibilidade de mostras externas. Para unha colección de mostras de ensilaxes de herba de Xapón (n=120) Amari e Abe (1997) obtiveron calibracións NIRS cunha aceptábel capacidade preditiva do valor da dixestibilidade (expresada como TDN) con valores en validación externa de r^2= 0,88, SEP= ±2,7 e RER_{ve}= 11,0, sendo moi semellantes aos obtidos no presente traballo.

Sobre un amplo conxunto de mostras de ensilaxe de herba (n=369) procedentes de experimentos no CIAM e de diversas explotacións leiteiras de Galiza, Castro (1998) desenvolveu calibracións NIRS para estimar o valor da composición química e o valor de DMO *in vitro* (método Tilley-Terry), obtendo ecuacións que permitiron explicar unha porcentaxe de varianza do 89% para PB, 90% para MO, 92% para FND e 94% para FAD. Se ben o erro de predición de DMO en validación cruzada era relativamente alto (±3,9%), o coeficiente de determinación en calibración foi do 90% e a autora conclúe que NIRS pode ser usado para a estimación do valor nutricional das ensilaxes de herba, sinalando a necesidade de ampliar a colección de mostras con novos valores de DMO e de corrixir os valores de DMO *in vitro* con estándares avaliados *in vivo* para incrementar a robustez das ecuacións. Nun traballo posterior sobre unha colección máis ampla de mostras de ensilaxe de herba, Castro (2002) reporta novamente unha satisfactoria capacidade das calibracións NIRS para estimar a concentración de FAD e FND, con valores de r^2 e RPD_{ve} en validación externa superiores a 0,92 e 3, respectivamente, sendo adecuada a predición de MO e PB, con respectivos valores de r^2 e RPD_{ve} de 0,89 e 2,7. En cambio, a predición do valor de DMO *in vivo* a pesar de ser máis precisa que a obtida no anterior traballo tampouco logrou ser totalmente satisfactoria neste caso, mostrando a ecuación NIRS un valor de 0,81 para o

coeficiente de determinación en calibración R^2, un valor de $SECV$ de ±3,1% e un valor de 2,1 para $RPDvc$, sendo todos eles indicativos dunha menor precisión na estimación do valor de DMO de mostras de ensilaxes de herba comparado coa ecuación NIRS seleccionada no presente traballo.

De la Roza *et al*. (1999) utilizaron unha colección de mostras de ensilaxes de herba avaliadas *in vivo* no CIAM e no SERIDA para comparar a potencialidade de NIRS para estimar a DMO *in vivo* coa da dixestibilidade enzimática polo método FND-celulasa. O modelo de predición NIRS seleccionado para a estimación de DMO *in vivo* explicou ou 87% da variabilidade no conxunto de calibración e en validación externa mostrou valores de $SECV$, do ratio RPD_{vc} e de RER_{vc} de, respectivamente, ±3,4%, 2,47 e 11,8. A validación externa sobre 50 mostras, unha vez recalculado o modelo para as 150 mostras restantes, mostrou que a ecuación NIRS conseguía explicar o 79% da varianza de DMO *in vivo*, cun erro de predición SEP de ±3,0%, un valor RPD_{vc} de 2,0 e un valor RER_{vc} de 9,7, evidenciando unha moderada capacidade preditiva, apta para a clasificación das ensilaxes de herba por rangos de dixestibilidade, o cal coincide cos traballos de Castro (1998) e Castro (2002) citados anteriormente.

Para ensilaxes de herba de Wisconsin (USA) Lundberg *et al*. (2004) conseguiron unha satisfactoria predición cuantitativa por NIRS do valor de DMO *in vitro*, con valores de R^2= 0,82, de RPD_{vc}= 2,5 e do erro de predición $SECV$= ±2,0%. Pola súa parte, Corson *et al*. (1999) e Restaino *et al*. (2009) indican unha moderada capacidade da estimación por NIRS do valor de DMO de ensilaxes de herba, con valores de entre 0,54 e 0,85 para o coeficiente de determinación en validación externa r^2, de entre ±2,7 e ±3,4% para o erro de predición en validación externa SEP e de entre 1,5 e 2,2 para o valor do estatístico RPD_{ve}.

Resultados semellantes aos obtidos no noso traballo foron reportados por Ibáñez e Alomar (2008) que obtiveron ecuacións NIRS para estimar a composición química e o valor enerxético de ensilaxes de herba de Chile, utilizando unha ampla colección de mostras (n=920), e reportaron unha alta capacidade preditiva para a estimación dos parámetros de composición química, con valores en validación cruzada superiores a 0,89 para o coeficiente de determinación $1 - VR$ e superiores a 3,0 para o estatístico RPD_{vc}, mentres que a ecuación para a predición do valor de EM (estimada a partir do valor da DMO *in vitro*)[1] por NIRS foi menos precisa, mostrando un valor de 0,87 para $1 - VR$, de 2,7 para RPD_{vc} e de 17,6 para

[1] O valor da enerxía metabolizábel (EM) foi obtido da ecuación EM (Mcal kg^{-1}) = 1,279 + 0,0325 DOMD, onde DOMD é o contido en materia organica dixestibel (%), determinada *in vitro* (Tilley e Terry, 1963) na materia seca

RER_{vc}, co cal se habilitaría o seu uso para realizar predicións cuantitativas seguindo os criterios de Williams e Sobering (1996).

5.8 – Ensilaxes de planta enteira de millo

A ensilaxe de millo conten proporcións variábeis de grao e parte vexetativa da planta, cada unha das cales varía en composición química e forma física dependendo do xenotipo e condicións de cultivo, o cal é causa das diferenzas encontradas na práctica no seu valor nutricional, a pesar da relativa constancia do mesmo en comparación con outras forraxes. Como indica o traballo de Demarquilly (1994), a composición da planta de millo varía relativamente pouco tras a floración, salvo para o contido en amidón que aumenta conforme se reduce o de glúcidos solúbeis. O valor da DMO da planta enteira cambia pouco tras o estado leitoso do grao, situándose no entorno de 67% a máis de 75% dependendo de distintos factores, entre eles o estado da colleita, o tipo de híbridos utilizados e as condicións ambientais. Tras a floración, a dixestibilidade da planta de millo pode aumentar, descender ou permanecer constante, dependendo das condicións ambientais (Struik, 1983) o que dificulta a predición da dixestibilidade. Grazas á facilidade da planta do millo para ensilar correctamente, a composición química apenas cambia respecto da forraxe orixinal salvo un pequeno incremento pasivo dos contidos en proteína, fibra e amidón. Por outra banda, cando a planta de millo se colleita nun estado adecuado de madurez, a dixestibilidade da materia orgánica é identica á da planta en pé no momento da colleita (Andrieu e Demarquilly, 1974).

Polo xeral, a variabilidade na composición química e dixestibilidade das ensilaxes de millo é menor que a observada para outros tipos de forraxes, o que pode estar causado en parte debido á reducida base xenética sobre da que que se construíron os híbridos actuais (Hölker *et al*., 2019). Os valores do coeficiente de variación da composición química e da DMO da colección de mostras de planta enteira de millo utilizadas no presente traballo, en comparación co rango observado para as das coleccións de pastos, ensilaxes de herba foron, respectivamente de 1,1% vs. 3,1 a 4,0% para MO, de 16,4% vs. 29,0 a 41,3% para PB, de 13,5% vs. 13,7 a 26,9% para FND, de 16,0% vs. 13,5 a 22,5% para FAD, de 21,4% vs. 38,1% para LAD e de 4,9% vs. 9,1 a 10,6% para DMO, mostrando a súa menor variabilidade. Un dos factores principais que afecta ao valor nutricional da ensilaxe de millo é o estado de madurez na colleita (Johnson *et al*., 1999), que á súa vez está afectado por prácticas de manexo como a data de colleita, as condicións de cultivo e o xenotipo utilizado (Xu *et al*,.

1995), de forma que unha data demasiado prematura pode ser causa de perdas de valor nutricional por produción de efluente e por non estar completada a acumulación de amidón nos graos da planta, mentres que unha colleita excesivamente tardía pode causar unha redución na dixestibilidade do amidón e da fibra (Wiersma *et al*., 1993).

Comparando os valores medios da colección de mostras utilizadas no presente traballo cos das mostras de ensilaxes de millo de explotacións leiteiras galegas recibidas no LIGAL durante un período de 15 anos se observa unha marcada similitude na composición química, con valores respectivos (en %MS) de 96,0 e 96,3 para MO, de 6,7 e 8,1 para PB, de 44,0 e 48,5 para FND, de 24,8 e 24,7 para FAD e de 27,5 e 28,6 para ALM, sendo os valores medios respectivos de DMO de 68,8 e 70,5%. Dado que na nosa colección se integran mostras de planta enteira ensilada en estados anteriores á floración e en estados próximos á madurez fisiolóxica da planta, situados fóra do rango de estados de madurez recomendados para ensilar, o rango de valores da mesma é algo máis ampla que a doutras bases de datos bibliográficas. Por exemplo, os rangos de variación (en %MS) da composición química e dixestibilidade das mostras da colección utilizada neste traballo, en comparación cos valores das Táboas FEDNA (2016) son, respectivamente, para MO de 91,5 a 97,8 e de 92,7 a 96,0 %MS, para PB de 3,9 a 10,0 e de 7,0 a 8,8 %MS, para FND de 30,2 a 64,7 e de 44,9 a 57,0 %MS, para FAD de 14,4 a 36,7 e de 25,3 a 40,3 %MS, para LAD de 1,0 a 3,5 e de 3,2 a 4,1 %MS, para ALM de 0,0 a 47,1 e de 10,3 a 34,2 %MS e para DMO de 59,1 a 76,8 e de 64,0 a 69,3%, mostrando a maior amplitude de valores na nosa colección para a maior parte dos parámetros. Os valores medios de DFND da nosa colección (51,4%; *SD*= ±7,7%) son semellantes aos reportados por outros autores, por exemplo Andrieu *et al*. (1993) que indican valores medios de 56,6%, (*SD*= ±7,1%) para unha colección de mostras de distintos híbridos cultivados en diversas localidades francesas durante dous anos e colleitados en diferentes estados de madurez onde non estaban representados xenotipos *bmr*, como é tamén o noso caso.

Ecuacións empíricas

A predición da DMO a partir da composición química da planta enteira de millo, vése dificultada pola relativamente escasa correlación existente entre ambas, sendo reportadas na bibliografía ecuacións dun poder preditivo en xeral mediocre, tal e como se observou no presente traballo. Andrieu (1976b) sinalou a ausencia de correlacións significativas entre a DMO das plantas de millo desenvolvidas normalmente (frescas ou ensiladas) e os valores de materia seca, fibra bruta, porcentaxe de espiga e número de días tras a floración feminina.

Con todo, cando considerou só aquelas plantas cultivadas a partir dos 40 días da floración, reportaron correlacións significativas co contido en fibra bruta (r= -0,45) e a porcentaxe de espiga (r= 0,54). Este traballo foi a base para a elaboración das primeiras ecuacións do INRA (1981, 1987), válidas unicamente para ensilaxes con máis do 28% MS ou despois dos 50 días da floración (R^2= 0,49, con fibra bruta como preditor). Deinum *et al.* (1984) observaron, para mostras de ensilaxes de millo de Holanda, unha correlación negativa altamente significativa entre DMO e FB (r= -0,88) obtendo unha ecuación cun valor de RSD de ±3,0%. Aerts *et al*. (1977) compararon ecuacións holandesas coas utilizadas en Bélxica para ensilaxes de millo e observaron notábeis diferenzas nos resultados, especialmente para aquelas mostras cun contido en FB>20%, a pesar de que as ecuacións se obtiveron a partir de poboacións con rangos semellantes de dixestibilidade e fibra bruta, concluíndo que a diverxencia observada podía deberse a factores de localidade, data de colleita e clima, aparte das diferenzas no método de análise da fibra.

Outros traballos fan fincapé no mesmo aspecto, Aufrère *et al*. (1992), a partir de 112 mostras de planta enteira de millo cultivadas en 3 localidades de Francia durante 1987 e 1988, obtiveron correlacións significativas entre DMO e diversas expresións da parede celular, con valores do coeficiente de correlación de -0,65 e -0,50 para lignina e fibra bruta respectivamente, mentres que o RSD do conxunto das ecuacións era de aproximadamente ±2%. Givens *et al*. (1995), utilizando 4 coleccións de ensilaxes de millo (dous do Reino Unido, unha de Bélxica e outra de Holanda), obtiveron correlacións de -0,68 e -0,65 entre o valor de DMO *in vivo* e os preditores FAD e FB.

Andrieu *et al*. (1999) obtiveron valores de erros mínimos de predición para a DMO *in vivo* de planta enteira de millo (RSD) e do ratio SD/RSD de entre ±2,3 e ±2,6% e de entre 1,5 e 1,2, respectivamente, utilizando FAD e FND como preditores. Os resultados do traballo de De Boever *et al*. (1999) mostran que para ensilaxes de planta enteira de millo é posíbel predicir DMO cun valor de RSD de ±1,7, ±1,5 e ±1,5% utilizando ecuacións baseadas en parámetros químicos, en dixestibilidade *in vitro* (Tilley e Terry, 1963) e en dixestibilidade enzimática pepsina-celulasa, respectivamente, como preditores, obtendo valores do ratio SD/RSD de 1,6, 1,7 e 1,7 para os modelos que inclúen como predictores parámetros químicos (fibra e lignina), dixestibilidade *in vitro* con inóculo ruminal e dixestibilidade enzimática (pepsina-celulasa). No estudo de Givens *et al.* (1995) para unha colección de mostras de ensilaxe de millo procedentes do Reino Unido, Bélxica e Holanda, cítanse erros de estimación do contido en DOMD da orde de ±3,2 e ±2,6% para modelos con parámetros químicos (fibra) e coa

dixestibilidade enzimática (FND-celulasa), respectivamente, como preditores. No traballo de Flores *et al*. (2005) para os modelos de predición de DMO *in vivo* dun conxunto de ensilaxes de millo de Galiza cun contido en MS>28% se obtiveron valores de RSD e do ratio SD/RSD que foron, respectivamente, de ±2,0% e 1,6 para unha ecuación que integraba o valor de DMO *in vitro* (Tilley e Terry, 1963) cos contidos en PB e LAD, de ±2,1% e 1,5 para unha ecuación química multivariábel con LAD, PB e FB como preditores e de ±2,7% e 1,2 para as ecuacións baseadas en FAD ou en FND como preditores.

As ecuacións empíricas obtidas no presente traballo mostraron un valor de RSD de entre ±2,5 e ±3,1% para o mellor modelo multivariábel baseadao en LAD, PB e FB e para o modelo baseado unicamente en FND como preditor. Comparados cos resultados dos anteriores autores, o erro mínimo de predición das ecuacións empíricas para a predición de DMO se sitúa entre o reportado por Andrieu *et al*. (1999) e De Boever *et al*. (1999), por unha banda, e por Flores *et al*. (2005) por outra, sendo claramente inferior ao reportado no traballo de Givens *et al*. (1995). Cando se comparan os resultados en termos do ratio SD/RSD, os valores obtidos no noso traballo para as ecuacións empíricas (1,3 para os modelos multivariábeis, 1,2 para o baseado en LAD e 1,1 para os baseados en FAD ou FND) son inferiores aos reportados polos anteriores autores, mostrando unha precisión lixeiramente inferior, sendo comparábeis cos reportados por Givens *et al.* (1995) para estimación do contido en DOMD, que indican valores de entre 1,08 e 1,04 para os modelos de regresión simple baseados en fibra (FB, FAD, FND).

As ecuacións empíricas para a estimación do valor da dixestibilidade da FND obtidas no presente traballo mostran, en base aos estatísticos de validación cruzada e externa, unha baixa capacidade preditiva, en liña co observado para a estimación de DMO e cos resultados doutros traballos, se ben non se atoparon referencias na bibliografía acerca do comportamento de ecuacións empíricas construídas especificamente para planta de millo, polo que a información revisada neste apartado para a discusión de resultados se refire a outras especies forraxeiras.

A lignificación das paredes celulares determina a dixestibilidade da FND (Wilson, 1994), que depende, á súa vez, de distintos factores, como a especie, o estado de madurez e as condicións ambientais (Van Soest *et al*., 1978). Jarrige (1980) reporta ecuacións de regresión para a estimación de DFND de especies pratenses baseadas no contido en lignina como preditor único con valores de R^2 e RSD en calibración de, respectivamente, 0,81 e ±4,1% para especies gramíneas e de 0,86 e ±6,7% para leguminosas, indicando que a superioridade

da lignina como preditor da dixestibilidade das forraxes fronte a outras fraccións da fibra se ve maximizada cando as ecuacións se obteñen por separado para distintos grupos de plantas, incluíndo distintas especies e distintos ciclos de crecemento.

No traballo de Traxler *et al*. (1998) para a estimación do valor de FND indixestíbel (FNDI, expresado como %FND) dunha ampla colección de mostras de especies gramíneas e leguminosas C3 e C4 se obtiveron valores do coeficiente de correlación R^2 de entre 0,79 e 0,81 para ecuacións baseadas tamén no contido en lignina. Para distintas especies de gramíneas de clima temperado Jančík *et al*. (2008) estudaron a relación entre os valores de FNDI e a composición química das mostras, reportando que unha ecuación baseada no contido en LAD permitiu estimar FNDI cun coeficiente de determinación R^2= 0,78, mentres que a mellor ecuación incluía LAD, PB e FND cun R^2= 0,87. Para unha colección de ensilaxes de herba de Finlandia, Nousiainen *et al*. (2004) obteñen unha ecuación de predición de FNDI baseada en LAD con valores de R^2 de 0,32 a 0,35, que aplicada nun conxunto independente de ensilaxes mostrou un erro de predición SEP de ±3,0 a 3,1% cun valor de RPD de 1,21 a 1,25. Tamén en ensilaxes de herba Stergiadis *et al*. (2015) desenvolveron ecuacións de predición para a dixestibilidade da FND de pastos frescos a partir da composición química utilizando unha ampla base de datos con 464 mostras avaliadas *in vivo*, sendo reportado que as mellores ecuacións de regresión multivariábeis en validación externa mostraron valores do coeficiente de determinación r^2 e do erro de predición SEP de 0,55 e ±5,8 %, respectivamente.

No presente traballo, o coeficiente de correlación (r) entre o valor de DFND e o contido en LAD foi de 0,31, inferior ao observado para o contido en PB (r= 0,65), FND (r= 0,47) e FAD (r= 0,42) o que pode ser debido á maior imprecisión na determinación deste parámetro polo método de referencia unido ao seu relativamente baixo contido nas mostras de ensilaxe de millo. Non obstante, as ecuacións empíricas obtidas para a estimación do valor de DFND, baseadas nos contidos en PB, ALM e HCEL, mostran valores do coeficiente de determinación en validación externa (r^2) de entre 0,38 e 0,33 e de RPD_{ve} de entre 1,1 e 1,2, semellantes aos indicados no traballo de Nousiainen *et al*. (2004) para a estimación de FNDI, se ben o valor dos coeficientes de determinación en calibración (R^2) das nosas ecuacións, que oscilaron entre 0,50 e 0,42 foron inferiores aos reportados nos traballos de Traxler *et al*. (1998) e de Jančík *et al*. (2008), mostrando un peor axuste das ecuacións. No traballo de Andrieu *et al*. (1993) se reporta unha correlación de r= 0,39 entre o valor de DFND e o grao de lignificación da parede celular para a colección de mostras de planta enteira de millo,

indicándose que esta correlación é significativamente máis baixa na planta de millo que para a maior parte das forraxes tal e como confirman outros autores (por exemplo, Van Soest 1967), o cal explica a dificultade de predicir a dixestibilidade da FND por métodos empíricos baseados na composición química.

Ecuacións NIRS para a estimación da composición química e DMO

As ecuacións NIRS para a predición da composición química das ensilaxes de millo obtidas no presente traballo mostraron, en validación cruzada, un bo axuste na estimación de PB, FND, FAD e AMD, con valores do coeficiente de determinación ($1-VR$) próximo ou superior a 0,90 e RPD_{vc}> 3, sendo aceptábel para MO ($1-VR$= 0,86 e RPD_{vc}> 2,5) e deficiente para FB, CEL e LAD ($1-VR$< 0,75 e RPD_{vc}< 2,0). Os resultados obtidos en validación externa, aplicando os criterios de Shenk *et al*. (2001) e de Shenk e Westerhaus (1991b), levaron á conclusión de que as ecuacións NIRS eran de utilidade para estimar cuantitativamente os contidos de MO, PB, FND e FAD de mostras independentes de ensilaxes de millo, mentres que non era posíbel realizar estimacións fiábeis dos contidos en FB, CEL e LAD, sendo necesario ampliar a variabilidade da colección de mostras de calibración. En liña con estes resultados, a revisión dos traballos de De Boever *et al*. (1997), Lundberg *et al*. (2004), Cozzolino *et al*. (2003), Fassio *et al*. (2009) e Dias (2015) mostran, de media, unha boa calidade preditiva das ecuacións NIRS para estimar os contidos PB, ALM, FND e FAD de ensilaxes de planta enteira de millo, con valores do coeficiente de determinación en validación cruzada ($1-VR$) de entre 0,86 e 0,92 e de RPD en validación cruzada ou externa entre 2,0 e 3,0 sendo dunha calidade mediocre a estimación do contido en cinzas, con valores medios de 0,68 para o coeficiente $1-VR$ e de 2,1 para RPD, mentres que a predición de LAD era pouco fiábel, cun baixo valor medio de 0,49 para $1-VR$ e de 1,4 para RPD.

Os resultados obtidos na presente Tese para a estimación dos valores de DMO e DFND en mostras de ensilaxes de millo mostran, en liña cos reportados na bibliografía, unha clara superioridade da capacidade preditiva das ecuacións NIRS sobre as ecuacións empíricas baseadas en preditores químicos. En validación externa a técnica NIRS permitiu incrementar substancialmente a porcentaxe de varianza explicada de DMO, pasando do 27% ao 73%, mentres que reduciu un 38% o erro de predición, pasando de ±2,97 a ±1,84%. Igualmente, para a estimación de DFND, o uso da técnica NIRS incrementou a porcentaxe da varianza explicada desde o 38% ao 60% e reduciu un 23% o erro de predición, pasando de ±6,23 a ±4,80%.

As ecuacións seleccionadas neste traballo para a predición NIRS dos valores de DMO e DFND da colección de mostras ensilaxes de millo, aplicando os criterios de Shenk *et al*. (2001) e de Shenk e Westerhaus (1991b) para xulgar a fiabilidade das mesmas en análise de rutina sobre mostras externas, están dentro (no caso da ecuación de estimación de DMO) ou son moi próximos (no caso da ecuación de estimación de DFND) dos límites fixados para permitir a predición sobre mostras independentes o cal, unido a que o valor de SEP das respectivas ecuacións foi ≤ 2 veces o valor do erro estándar do método de referencia indicaría que as ecuacións NIRS serían aceptábeis para a predición de ditos parámetros (Windham *et al*., 1989; Marten *et al*., 1989).

En xeral, os resultados do presente traballo concordan cos referidos na bibliografía que indican a aplicabilidade da técnica NIRS para predicir a dixestibilidade de ensilaxes de millo se ben se pon de manifesto, en xeral, un poder preditivo inferior ao observado para ensilaxes de herba e outras forraxes frescas principalmente en razón a unha comparativamente menor variabilidade da colección de mostras para os diversos parámetros analizados, como indican, entre outros traballos, o de Lundberg *et al*. (2004).

En base a unha colección de 142 mostras de ensilaxes de millo procedentes de granxas de Virginia (USA), Moe e Carr (1985) reportaron ecuacións NIRS cun coeficiente de determinación inferior a 0,40 para estimar a dixestibilidade da materia orgánica *in vitro*, obtendo un valor moi semellante cando se utilizaba unha ecuación de regresión baseada no contido en FAD das mostras. Concluíron que NIRS tiña potencial para realizar unha estimación cualitativa básica do valor enerxético das ensilaxes de millo, pero non era adecuado para realizar predicións cuantitativas. Sen embargo os resultados de Valdés *et al*. (1987b) nun traballo realizado con 240 mostras de ensilaxes de millo de diversas localidades de Ontario (Canadá) indicaron que NIRS era unha técnica adecuada para a predición da dixestibilidade *in vitro* da materia orgánica das ensilaxes de millo, reportando valores do coeficiente de determinación en validación cruzada de entre 0,81 e 0,85 con erros de predición de entre ±1,70 e ±1,73%, dependendo do aparato NIRS onde realizaba a análise das mostras. Esta observación era confirmada por outros traballos como o realizado sobre 59 mostras de ensilaxes de millo de granxas comerciais dos estados de Maryland, Virginia e Indiana (USA) por Reeves *et al*. (1989), que obtiveron en validación externa valores de varianza explicada superiores ao 80% e de RPD_{ve} superiores a 2,0 para estimar a concentración de PB, FAD e FND, indicando unha aceptábel capacidade preditiva para estes parámetros de calidade, mentres que as ecuacións NIRS conseguiron explicar o 82% da

varianza da DMO *in vitro* das mostras cun erro de predición de ±1,43% e un valor de RPD_{ve} de 2,0, indicando a utilidade de NIRS para estimar este parámetro.

Dardenne *et al*. (1993) comparan diferentes métodos de estimación do valor enerxético da planta enteira de millo utilizando 226 mostras de DMO coñecida procedentes de 16 xenotipos cultivados en diferentes localidades francesas, observándose para as ecuacións NIRS valores en calibración de R^2= 0,64 e RSD= ±1,70% concluíndo que fiabilidade das predicións NIRS supera á de calquera outro método de laboratorio, a non ser que se incorporen criterios morfolóxicos da planta ao grupo de preditores. Noutro ensaio, De Boever *et al*. (1997), sobre unha colección de 50 mostras de ensilaxes de millo reportan coeficientes de correlación (r) da DMO *in vivo* de 0,82 e 0,81, respectivamente, coa dixestibilidade determinada *in vitro* con celulasas ou con fluído ruminal, de -0,77 con FAD e de 0,75 co valor predito por NIRS, concluíndo que a técnica NIRS pode ser usada para estimar DMO *in vivo*, pero que a súa precisión era lixeiramente inferior á obtida cos métodos *in vitro*.

Dentro dun amplo estudo onde se desenvolveron ecuacións NIRS para estimar a composición nutricional e o valor enerxético (TDN) de diferentes tipos de forraxe de Xapón, Amari e Abe (1997) reportan que as ecuacións NIRS construídas para unha colección de 160 ensilaxes de millo mostraron unha pobre capacidade preditiva dos parámetros de valor nutricional, inferior á observada para as coleccións de ensilaxes de herba, fenos e mesturas de ambas forraxes, mentres que os estatísticos de validación externa para a estimación do contido en TDN (r^2= 0,66; SEP= ±2,31% e RER_{ve}= 5,1) evidenciaban a limitada capacidade preditiva das ecuacións, en parte debidas á escasa variabilidade do valor TDN e aos erros do método de referencia utilizado.

Utilizando datos dunha colección de ensilaxes de millo avaliados *in vivo* no CIAM, Castro *et al*. (2003) e Castro *et al*. (2005) desenvolveron calibracións NIRS para estimar o valor de DMO *in vivo* obtendo ecuacións que explicaban até un 55% de varianza en validación cruzada cun erro de predición de entre ±2,1 e ±2,4%, concluíndo que NIRS era unha técnica satisfactoria para predicir o valor nutricional de ensilaxes de millo, pero a súa aplicación na práctica requiría da ampliación da variabilidade contida na base de datos de calibración. Os resultados da ecuación NIRS seleccionada para a estimación de DMO no presente traballo, cun 77% de varianza explicada e un erro de predición de ±1,49% mostran a superior precisión da estimación conseguida.

Como resultado do proxecto *Maize Silage NIRS* que tiña como obxecto obter modelos de predición NIRS da dixestibilidade *in vivo* (DOMD) de ensilaxes de millo no Reino Unido, Shelley (2013) reportan resultados non satisfactorios para a estimación da composición química, con valores en validación cruzada de $1-VR$, RPD_{vc} e RER_{vc} de 0,81, 1,6 e 8,8 para PB, de 0,74, 1,4 e 7,0 para ALM e de 0,55, 1,3 e 8,0 para CZ, mentres que a ecuación NIRS seleccionada para estimar o valor de DOMD mostrou unha capacidade preditiva media-baixa, inferior á observada no noso traballo, logrando explicar unicamente un 55% da varianza en validación cruzada cun erro estándar ($SECV$) de ±2,1%, un valor de RPD_{vc} de 1,6 e un valor de RER_{vc} de 8,4.

Predición da FND indixestíbel

Andrieu *et al*. (1999), na revisión de métodos de laboratorio franceses para a estimación da DMO *in vivo* de millo, reporta que o valor de DFND *in vivo* explicaba o 64% da variabilidade da DMO, cun RSD de ±1,9%, mentres que o valor de FNDI *in vivo* (%MS) explicaría o 96% da variabilidade de DMO cun valor RSD de ±0,6% unidades, concluíndo que as estimacións fiábeis da dixestibilidade da parede celular poden ser usadas en ecuacións empíricas para predicir a DMO destas forraxes. Para unha colección de 94 ensilaxes de herba de Finlandia, Nousiainen *et al*. (2004) estudaron a capacidade preditiva por NIRS da fracción indixestíbel da FND, reportando a superioridade desta técnica en comparación con outros métodos de laboratorio na estimación de FNDI, con valores do coeficiente de determinación en calibración R^2 de 0,94 vs. 0,35 a 0,83, do erro de predición SEP de ±0,88 vs. ±1,5 a ±3,1% e do valor de RPD de 4,2 vs. 1,2 a 2,4 para a ecuación NIRS vs. métodos alternativos, respectivamente.

No traballo de Lundberg *et al*. (2004) onde utilizaron 300 mostras de ensilaxes de millo de Wisconsin (EEUU), se reporta unha pobre calidade da ecuación NIRS para predicir o valor de DFND *in vitro*, con baixos valores de $1-VR$ e de RPD_{vc} (0,19 e 1,1, respectivamente), e de ±3,62% para $SECV$ o cal, en liñas xerais, coincide cos resultados obtidos no presente traballo en canto á maior calidade das predicións de DMO por NIRS comparada coa de predición de DFND, sendo relacionado este feito co maior erro do método de referencia para esta determinación, que é case dúas veces superior ao da medida de DMO polos métodos de referencia. Concordando cos anteriores resultados, Liu *et al.* (2008) para unha colección de 142 ensilaxes de diversas especies, entre elas planta enteira de millo, con valores de DMS e DFND determinados *in vitro*, reportan unha mellor predición das ecuacións NIRS para

estimar o valor de DMS que para DFND, con valores en validación externa de, respectivamente, 0,83 vs. 0,66 para r^2 e de ±4,2% vs. ±5,5% para SEP.

Na revisión de Peyrat *et al*. (2016) sobre os novos métodos de cálculo do valor alimentario INRA se propón a estimación da concentración de paredes celulares non dixestíbeis do millo forraxeiro a partir da DMO mediante a ecuación FNDI (%MS) = 88,7 – 0,955 x DMO (%) obtida a partir de 126 mostras (R^2= 0,88; RSD = ±0,94) para, posteriormente, calcular a dixestibilidade da parede celular da planta de millo forraxeiro integrando o valor de FNDI na ecuación DFND (%) = 100 x $\frac{FND\ (\%MS) - FNDI\ (\%MS)}{FND\ (\%MS)}$. Sen embargo, dada a escasa relación entre o contido en FND e o valor de DMO observado no presente traballo sería preferíbel optar pola predición directa do valor de DFND utilizando a ecuación NIRS seleccionada e estimar posteriormente o valor de FNDI, de ser requirido.

5.9 – Fenos de herba

Os datos medios de composición química (en %MS) e da dixestibilidade da materia orgánica (en %) da colección de fenos de herba utilizada no presente traballo mostran un baixo valor nutritivo medio desta forraxe, utilizada nas explotacións leiteiras basicamente como fonte de fibra na alimentación dos animais. Os valores da colección poden considerarse representativos das características dos utilizados nas explotacións leiteiras de Galiza, que proceden polo xeral de segundos ou terceiros aproveitamentos do pasto no mes de xullo, coincidindo co inicio da seca estival onde se dan as condicións de temperatura e humidade relativa para curar o feno no campo, ou no mes de agosto nas zonas máis frescas, polo xeral con escasa presenza de gramíneas, sendo aproveitados nun estado de madurez avanzado. A composición media e a variabilidade das mostras de fenos de herba procedentes de explotacións leiteiras colaboradoras en diferentes proxectos realizados no CIAM entre 2013 e 2019[†2] (G. Flores, comunicación persoal) son comparábeis cos da nosa colección, con valores medios e rangos de variación da 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, sendo o valor medio de DMO de 45,1% con rango de 30,0% a 58,3%. O parámetro máis variábel foi o contido en PB (CV=31,2%) seguido de DMO (CV=13,1%) e os menos variábeis foron FAD e FND (CV=8,3 e 8,6%, respectivamente) e, sobre todo, MO (CV

[†2] Proxectos RTA2012-00065-C05-02 e RTA2014-00086-C03-03 financiados por INIA e proxectos FEADER2016-59B e FEADER2017-022B financiados pola Xunta de Galicia.

=1,2%) o cal se asemella, en liñas xerais, co observado na colección de mostras de feno de herba utilizada nesta Tese. Nas Táboas INRA (2010), para os fenos de pradeiras naturais e de especies gramíneas (raigrases, dactilo e bromo) secados ao sol en cortes de 2º ciclo con rebrotes pouco foliáceos, se indican valores de composición química (en %MS) de entre 6,6 e 12,5 para PB, de entre 61,2 e 72,3 para FND e de entre 32,1 e 41,2 para FAD, sendo o rango de valores para DMO de entre 50,0 e 67,0%. Os valores das Táboas FEDNA (2016) para fenos de raigrás, por exemplo, indican unha calidade moi superior aos da colección utilizada no presente traballo, con valores medios de 15,6 %MS para PB (rango 10,5 a 22,3) e de 63,0% para DMO (rango 55,9 a 63,0), estando próximos os valores de DMO da nosa colección ao dos fenos de raigrás de 5ª categoría (50,6%) das citadas Táboas.

Ecuacións empíricas

A capacidade preditiva das ecuacións químicas para a estimación da DMO de fenos de herba seleccionadas no presente traballo, se considerou mediocre, aplicando os criterios de Shenk *et al*. (2001) e de Saeys *et al*. (2005) aos estatísticos de validación cruzada, que para a primeira ecuación baseada en FND mostrou valores de RPD_{vc} próximos a 2 e de RER_{vc} próximos a 10, sendo considerada de baixa calidade para as outras dúas con valores de RPD próximos a 1,5 e de RER próximos a 8,0.

Os resultados de diversos autores da bibliografía mostran o moderado poder preditivo da DMO conseguido polas ecuacións baseadeas en parámetros químicos, o cal coincide en liñas xerais cos resultados obtidos no presente traballo. Por exemplo, no traballo de Van der Koelen e Van Es (1973) realizado sobre unha diversa colección de forraxes holandeses, se reporta a superioridade para a predición de DMO *in vivo* da técnica con inóculo ruminal *in vitro* (Tilley e Terry, 1963) corrixida por estándares fronte a técnicas de laboratorio alternativas indicando que, para o grupo de mostras de fenos, o coeficiente de determinación e o valor da desviación estándar residual da ecuación de regresión entre os valores de DMO *in vivo* e os preditos por ecuacións baseadas en FND, FAD e LAD eran de 0,68 a 0,70 para R^2 e de ±2,51 a ±2,57% para RSD. Nun traballo posterior Aerts *et al*. (1977) para unha colección de 42 mostras de fenos de herba, indican valores do coeficiente de determinación en calibración de 0,35, de 0,53 e de 0,68 para ecuacións de regresión baseadas en FB, FAD e LAD, respectivamente.

Como resultado dos traballos realizados pola *American Forage and Grassland Council* a fin de establecer criterios de calidade para os fenos de gramíneas e leguminosas dos Estados

Unidos, Rohweder *et al.* (1978) publicou diversas ecuacións para estimar a dixestibilidade *in vivo* da materia seca a partir da FAD, indicando que a porcentaxe de varianza explicada pola ecuación seleccionada para fenos de alfalfa, baseada no contido en FAD era do 68%, mentres que dito valor para a ecuación de feno de gramíneas e utilizando o mesmo preditor[†3] se reducía ao 48%.

Utilizando unha colección de 31 fenos de prados franceses, Jarrige (1980) indica que as ecuacións de regresión para a predición do valor de DMO baseadas nos contidos en PB e FAD, PB e FB e PB e FND mostraban valores do erro mínimo de predición en calibración (RSD) de ±3,2, ±3,5 e ±3,9%, respectivamente. Para unha pequena colección de mostras de fenos de gramíneas e mesturas con leguminosas do Xapón onde se mediu o valor da DMO *in vivo* a partir do cal se calculou o valor de TDN, Abe (1984) indica que as ecuacións de predición de TDN baseadas en FAD ou en FB permitían explicar unicamente o 38% e o 36% da varianza cun RSD de ±5,2 e ±5,3% unidades, respectivamente, indicando un poder preditivo medio-baixo das ecuacións.

Moss e Givens (1990) obtiveron ecuacións de predición de DOMD *in vivo* baseadas na composición química dunha colección de 76 mostras de fenos de herba do Reino Unido indicando que os valores do coeficiente de determinación e do erro de predición en validación externa foron semellantes para as ecuacións baseadas en FB (r^2= 0,44 e SEP= ±5,0%), en FAD (r^2= 0,57 e SEP= ±4,4%) e en LAD (r^2= 0,49 e SEP= ±4,7%) como preditores. En coleccións máis reducidas de fenos de herba tamén avaliados *in vivo*, Carro *et al*. (1994) reportan valores respectivos de R^2 e RSD de 0,64 e ±4,4% para unha ecuación baseada en FND e de 0,68 e ±3,8% para outra ecuación con FAD como preditores de DMS construídas a partir dunha pequena colección de 11 fenos de herba, mentres que Khazaal *et al*. (1995) indican valores de R^2 e RSD en calibración de, respectivamente, 0,32 e ±6,1% e de 0,42 e ±5,7% para ecuacións de predición de DMO *in vivo* de 10 fenos de gramíneas baseadas en FAD e LAD.

Para unha colección de 22 fenos con valor de DMO *in vivo* coñecida, De Boever *et al*., (1999) obtiveron ecuacións de regresión baseadas en parámetros químicos con valores de R^2 e RSD de 0,63 e ±4,4% para unha ecuación baseada en FB, de 0,82 e ±3,1% para a baseada en LAD e de 0,86 e ±2,7% para a baseada en FB e LAD, respectivamente, sendo os valores do ratio SD/RSD e de RER de 1,6 e 6,0, de 2,3 e 8,5 e de 3,1 e 9,8, respectivamente,

[†3] Ecuacións de Rohweder *et al*. (1987) para estimar DMS (%) a partir do contido en FAD (%MS): para fenos de alfalfa, DMS =65,5 + 0,975FAD – 0,027FAD^2 e para fenos de gramíneas, DMS=41,9 +2,15FAD – 0,0433FAD^2

mostrando un mellor comportamento preditivo as ecuacións que incluían a concentración de lignina como preditor e evidenciando unha capacidade preditiva entre mediocre e aceptábel para as ecuacións empíricas, debendo sinalarse, sen embargo, o escaso número de mostras da colección de fenos como para considerar suficientemente robustas as ecuacións que, en todo caso, non foron obxecto de validación.

Na publicación das Táboas INRA (2010) se ofrecen ecuacións de predición baseadas nos contidos en PB e FAD para a estimación da dixestibilidade da materia orgánica de mostras de fenos[†4], diferenciadas para fenos de pradeira permanente (n=54), fenos de gramíneas (n=74) e fenos de leguminosas (n=20) con valores respectivos do coeficiente de determinación en calibración R^2 e do erro mínimo de predición RSD de 0,74 e ±2,6%, de 0,72 e ±2,7% e de 0,78 e ±1,9%, pero non se indican os estatísticos de validación das mesmas.

Os estatísticos de calibración das ecuacións empíricas para a estimación de DMO de fenos de herba obtidas no presente traballo (R^2 entre 0,71 e 0,56 e RSD entre ±3,8 e ±4,7%) se encontran dentro do rango de valores do conxunto de traballos anteriormente indicados, que oscilaron nun amplo rango (R^2 entre 0,32 a 0,86 e RSD entre ±1,9 e ±6,1%), dependendo das características da colección e dos preditores utilizados, debendo ser indicado que na maior parte dos casos as ecuacións publicadas na bibliografía non foron validadas, co cal se carece de información acerca da robustez e fiabilidade da predición, podendo ser xulgadas unicamente polos estatísticos de calibración.

Ecuacións NIRS para a estimación da composición química e DMO

As ecuacións NIRS obtidas no presente traballo para a predición dos contidos en PB, FND e FAD das mostras de fenos de herba mostraron unha excelente ou boa calidade, atendendo aos criterios de Williams (2014) e de Williams e Sobering (1996), con valores do coeficiente de determinación en validación cruzada superiores ou próximos a 0,90 e de RPD_{vc} superiores a 3,0. A ecuación NIRS seleccionada para a estimación do valor de DMO foi de excelente calidade, con valores de 0,91 para $1 - VR$, 3,7 para RPD_{vc} e ±1,9% para o erro de predición $SECV$. A superioridade mostrada por NIRS sobre as ecuacións empíricas na predición de DMO de fenos de herba faise evidente ao considerar que a ecuación NIRS seleccionada, comparada coa mellor ecuación química, aumentou a porcentaxe de varianza explicada en

[†4]As ecuacións para a estimación da DMO (%) de fenos de herba propostas nas Táboas INRA (2010) baseadas nos contidos de FAD e PB (%MS) son: para pastos permanentes, DMO = 58,5 - 0,26 FAD + 1,04 PB, para fenos de gramíneas DMO = 104,9 - 1,27 FAD + 0,14 PB e para fenos de leguminosas DMO = 98,5 - 1,14 FAD

validación cruzada desde 0,70 a 0,91 e reduciu o erro de predición da ecuación empírica a algo máis da metade, desde ±3,9 a ±1,9%.

Estes resultados reproducen, en liñas xerais, os reportados na bibliografía acerca do bo comportamento das ecuacións NIRS para a predición da composición química e a dixestibilidade de mostras de fenos de herba, se ben a precisión das nosas ecuacións son polo xeral superiores aos referidos noutros traballos, coincidindo cos resultados que reportan que a predición de PB e FND por NIRS é máis precisa, polo xeral, que a de FAD e sobre todo de MO, existindo certas diferencias entre os traballos publicados en canto á precisión de estimación da DMO.

En canto á predición da composición química de fenos de herba mediante NIRS, Jones *et al*. (1987) desenvolveron ecuacións NIRS para estimar os contidos en PB e FAD de fenos de herba, obtendo valores do coeficiente de determinación en validación cruzada superiores a 0,70 e valores de RPD_{vc} lixeiramente inferiores a ±2,0, mostrando unha mediocre calidade preditiva. Para unha colección de mostras húmidas de fenolaxe de herba Shenk e Westerhaus (1993b) obtiveron unha satisfactoria predición NIRS do contido en PB, mentres que a predición de FAD foi de mala calidade, con valores de RPD_{vc} en validación cruzada de 4,7 e 1,3 para as ecuacións de predición de PB e FAD, respectivamente. Coincidindo cos resultados da presente Tese, para unha colección de 109 fenos de alfalfa da zona mediterránea, Andueza *et al*. (2001) reportan unha excelente capacidade preditiva das ecuacións NIRS para estimar os contidos en PB e FND, con valores de R^2 superiores a 0,90, sendo menos precisa a estimación de CZ, con valores de R^2 próximos a 0,80. Para unha colección de 90 mostras de feno e fenolaxe de herba de granxas de Uruguai, Cozzolino *et al*. (2006) reportan unha boa calidade preditiva das ecuacións NIRS para estimar o contido en CZ, PB e FND, con valores de R^2 superiores a 0,90 e RPD de 3,0, 3,0 e 2,0, respectivamente, mentres que a ecuación para a predición de FAD cun valor de R^2 de 0,75 e de RPD de 1,5 foi moito menos precisa, indicando que o poder preditivo de NIRS decrece coa complexidade do parámetro analizado, o cal non parece corresponderse co mellor resultado obtido na estimación de FND, apuntando a un maior erro na determinación da FAD, en contra do que é habitual.

Nun experimento realizado para avaliar a utilidade da técnica NIRS para predicir a composición química e dixestibilidade *in vivo* de forraxes da rexión occidental de Canadá, Redshaw *et al*. (1986) desenvolveron ecuacións NIRS sobre unha colección de 82 mostras de fenos de distintas especies herbáceas que permitiron estimar os contidos en PB e FND con

boa precisión, con valores en validación externa de r^2>0,90 e de RPD_{ve} de 4,0 para PB e de 2,8 para FND, sendo de inferior calidade a predición de FAD (r^2= 0,71 e RPD_{ve}= 1,7), mentres que a estimación mediante NIRS do valor de DMS *in vivo* da colección, medida con gando vacún e ovino foi pouco precisa, con valores de r^2 de 0,68 e 0,47, RPD_{ve} de 1,7 e 0,7 e erro de predición SEP de ±2,4 e ±4,4% para os valores de referencia de dixestibilidade determinados con gando vacún e ovino, respectivamente. Flinn e Heazlewood (2000a,b) desenvolveron ecuacións NIRS para a predición da composición química e dixestibilidade de fenos representativos de diversas forraxes de Australia, reportando valores de R^2 e RSD de, respectivamente, 0,54 e ±3,41% e de 0,63 e ±3,04% para as ecuacións de predición baseadas en FAD e FND, sendo máis exacta e precisa unha ecuación NIRS que obtivo valores de R^2=0,70 e $SECV$= ±2,76%.

Andueza *et al*. (2001) indica que, para unha colección de 25 mostras de fenos de alfalfa de tres cultivares diferentes procedentes da zona de Aragón, que incluían distintos anos, ciclos e estados fenolóxicos, nos que se determinou a dixestibilidade *in vivo*, as calibracións NIRS mostraron valores do coeficiente de determinación $1 - VR$, do erro de predición $SECV$ e do estatístico RER_{vc} en validación cruzada de, respectivamente, 0,71, ±1,65% e 7,5 para DMS e de 0,87, ±2,64% e 9,7 para DMO, sinalándose que a pesar do escaso número de mostras en que se basean as ecuacións NIRS, estas se mostraron máis precisas que a maioría das ecuacións tradicionalmente usadas polos nutricionistas para estimar a calidade das forraxes, baseadas tanto en parámetros químicos como en métodos *in vitro*, o que se ve ratificado polos resultados da presente Tese.

As ecuacións NIRS obtidas no presente traballo para a predición da composición química e o valor de DMO de fenos de herba son de utilidade para ser aplicadas na análise de mostras procedentes de explotacións leiteiras. Sen embargo a colección debe ser ampliada con novas mostras para aumentar a súa variabilidade, en particular con mostras de fenos de maior calidade nutricional, procedentes de rebrotes foliáceos e mostras de fenos de especies leguminosas e mesturas destas especies con gramíneas. A colección ampliada deberá ser obxecto de validación externa con mostras independentes para verificar a súa robustez.

5.10 – Mesturas *unifeed*

A colección de mostras de mesturas completas para a alimentación de vacas de leite que foron utilizadas no presente traballo estaban compostas na súa maior parte (86%) por racións

unifeed para vacas en distintas fases de lactación, correspondendo o 14% restante a mostras destinadas á alimentación de animais de reposición e vacas secas. Por esta razón a composición media da colección difire lixeiramente dos habituais noutras bases de datos de mostras de racións *unifeed* para vacas en lactación. Así, os valores medios de PB, ALM e dixestibilidade (expresado como % TDN) da nosa colección (14,6 %MS, 21,8 %MS e 67,1%, respectivamente) están lixeiramente por debaixo das recomendacións habituais dos nutricionistas (por exemplo Linn *et al*., 2018) baseadas nas recomendacións da NRC (NRC, 2001) para vacas de leite en distintas fases da lactación (PB: 14-18 %MS, ALM: 25-35 %MS, TDN: 67-77%) e os de FAD (23,1 %MS) e FND (41,2 %MS) se sitúan no límite superior recomendado (FAD: 19-24 %MS) ou o exceden claramente (FND: 28-32 %MS).

Os valores medios da nosa colección resultan comparábeis aos obtidos en explotacións leiteiras colaboradoras en diferentes proxectos realizados no CIAM (G. Flores, comunicación persoal[†5]) onde tamén se inclúen mesturas para vacas nas diferentes fases de lactación xunto coas elaboradas para vacas lactantes de primeiro parto e a recría. Para esta serie, os valores medios e rango de variación dos contidos en PB (14,9 %MS, rango 9,6 a 21,3), ALM (23,6 %MS, rango 17,8 a 34,4), FAD (23,1 %MS, rango 17,8 a 34,4) e FND (39,2 %MS, rango 32,3 a 51,5) mostran a semellanza entre ambos conxuntos de mostras, sendo algo superior o valor de DMO (72,1%, rango 57,3 a 81,1) comparado co da colección utilizada no presente traballo (70,0%, rango 58,0 a 77,5).

Ecuacións empíricas para a predición de DMO

As ecuacións de predición seleccionadas no presente traballo para a predición da DMO das mesturas *unifeed* foron dous modelos multivariábeis baseados nos contidos en FND, PB e ALM e en FND e PB, e outros dous que utilizaban o contido en FND ou en FAD como únicos preditores. O valor do coeficiente de determinación en validación cruzada oscilou entre 0,76 para o primeiro dos modelos e 0,61 para o baseado no contido en FAD, con valores do erro de predición $SECV$ entre ±1,9 e ±2,5% e do estatístico RPD_{vc} entre 2,0 e 1,5. Atendendo aos criterios de Shenk *et al*. (2001) e de Williams (2001) as ecuacións multivariabeis e a baseada en FND, con valores do coeficiente de determinación en validación externa (r^2) entre 0,74 e 0,51, serían de utilidade para realizar unha predición aproximada cualitativa da dixestibilidade tanto en coleccións de mostras semellantes ao grupo de calibración como en mostras independentes, mentres que a ecuación baseada en

[†5] Proxectos RTA2012-00065-C05-02 e RTA2014-00086-C03-03 financiados polo INIA e proxectos FEADER2016-59B e FEADER2017-022B financiados pola Xunta de Galicia.

FAD, cun valor r^2 de 0,32, claramente inferior ao valor límite de 0,50 (Windham *et al*., 1989) non sería de utilidade para realizar predicións en colectivos de mostras independentes.

O interese de dispor de ecuacións para avaliar o valor nutricional de racións para vacas de leite que conteñan proporcións variábeis de forraxes ensiladas, fenos, concentrados e outras materias primas foi sinalado por diversos autores, se ben a información existente na bibliografía que permita comparar os nosos resultados é limitada. Donker e Naik (1979) a partir dunha reducida base de datos composta por 14 racións de vacas de leite cun amplo rango de variación obtiveron ecuacións baseadas en FB e en FB e PB para a estimación da dixestibilidade das racións (TDN), reportando valores do coeficiente de determinación en calibración (R^2) de 0,89 e 0,95, respectivamente. Utilizando un conxunto de 224 racións mixtas (forraxes e concentrados) para cabras de leite, Giger *et al.* (1986) obtiveron modelos univariábeis de predición do valor DMO con valores de R^2 e RSD en calibración que oscilaron, respectivamente, entre 0,32 e ±3,2% para FB e 0,50 e ±2,8% para LAD, mentres que as ecuacións de predición multivariábeis baseadas nos contidos en fibra (FB, FAD ou FND), LAD e PB foron máis precisas, con valores de R^2 entre 0,56 e 0,64 e de RSD entre ±2,6 e ± 2,3%, sendo a magnitude de ambos estatísticos lixeiramente inferior aos obtidos para as ecuacións empíricas obtidas no presente traballo. De Boever *et al*. (1999) utilizando una colección de 37 mostras de materias primas ricas en fibra (FB ≥ 19%MS e DMO ≤ 70%) obtiveron unha ecuación baseada en FB como único componente que conseguiu explicar o 81% da varianza de DMO cun valor RSD de ±4,5% e un ratio SD/RSD de 2,3, en base ao cal consideraron aceptábel o comportamento preditivo da ecuación empírica, se ben o número de observacións da colección foi demasiado escaso para a obtención de ecuacións suficientemente robustas que, en todo caso, non puideron ser obxecto de validación neste traballo.

Ecuacións NIRS para a predición da composición química e DMO

As ecuacións NIRS obtidas no presente traballo para a predición dos contidos en MO, PB, FND, FAD, FB, EE e ALM foron dunha calidade excelente, atendendo aos criterios de Williams (2014), mostrando todas elas valores do coeficiente de determinación en validación externa r^2 > 0,90 (entre 0,90 para MO e 0,99 para ALM) e de RPD > 3,0 (entre 3,4 para MO e 8.4 para ALM). Os nosos resultados mostraron a capacidade de NIRS para estimar con elevada precisión os valores de composición química das mostras de mesturas *unifeed* en liña co reportado por outros autores. Por exemplo, De Boever *et al*. (1995) utilizando unha colección de 179 mostras de alimentos compostos por ingredientes de distinta natureza para

gando vacún, reportan un bo comportamento das ecuacións NIRS para a predición da composición química, con valores do erro de predición SEP de ±1,4% para PB, ±1,4% para FB e ±0,7% para EE. Nun traballo con mostras de mesturas *unifeed* para grandes aves, Swart *et al*. (2012) reportan un excelente comportamento das ecuacións NIRS para a predición de PB, FB e FND, con valores de $r^2 \geq 0{,}94$ e $RPD_{ve} \geq 4{,}0$, sendo boa a predición de EE e FAD (r^2 e RPD_{ve} próximos a 0,9 e 3,0, respectivamente) e pobre a predición de CZ ($r^2 < 0{,}70$ e $RPD < 2{,}0$). As calibracións NIRS obtidas por Mentink *et al.* (2006) para estimar a composición química de mostras de racións completas procedentes de granxas leiteiras de Wisconsin (USA) mostraron en validación cruzada valores de RPD_{vc} próximos ou superiores a 3,0 para a estimación de PB, FND e ALM e de entre 2,0 e 2,5 para CNET, EE e CZ, indicando que NIRS ten utilidade para predicir a composición de racións *unifeed* en nutrientes básicos como PB, FND, ALM, CNET e EE. As ecuacións NIRS obtidas no traballo de Ki *et al.* (2009) para estimar a composición química dunha ampla colección (n=253) de mostras de racións *unifeed* de granxas leiteiras de Corea do Sur foron menos satisfactorias, reportando valores do coeficiente de determinación en validación cruzada ($1 - VR$) e de RPD_{vc} de, respectivamente, 0,69 e 1,3 para CZ, de 0,89 e 2,3 para PB, de 0,72 e 1,5 para EE, de 0,84 e 2,4 para FB, de 0,88 e 2,3 para FAD e de 0,82 e 1,9 para FND, o que indica unha baixa capacidade preditiva das ecuacións, toda vez que unicamente para PB, FB e FAD permitirían, en base ao RPD_{vc}, realizar unha clasificación cualitativa das mostras en base a estes compoñentes, seguindo o criterio de Williams (2014). Mellores resultados foron obtidos no traballo de Soldado *et al*. (2009) que, a partir dunha colección de 183 mostras de racións completas procedentes de explotacións leiteiras da Cornixa Cantábrica, indican valores de $1 - VR$ e de RER_{vc} en validación cruzada, respectivamente, de 0,62 e 9,7 para CZ, de 0,82 e 14,0 para PB, de 0,81 e 13,4 para FB, de 0,74 e 11,6 para EE, de 0,71 e 11,1 para ALM, de 0,81 e 13,6 para FND e de 0,77 e 12,7 para FAD, indicando que NIRS permite predicir estes parámetros con boa precisión e exactitude, excepto para o contido en cinzas. Os resultados deste traballo coinciden, esencialmente, co observado no noso estudo en canto á satisfactoria capacidade das ecuacións NIRS para estimar a composición química das mostras de mesturas completas para vacas de leite, se ben a precisión das ecuacións obtidas no traballo do SERIDA é lixeiramente inferior.

A ecuación NIRS seleccionada no presente traballo para a estimación de DMO permitiría unha predición cuantitativa aceptábel de mostras independentes, segundo os criterios de Shenk *et al*. (2001), de Saeys *et al.* (2005) e de Williams (2014), con valores en validación

externa de 0,83 para r^2, 2,5 para RPD_{ve}, 10,0 para RER_{ve} e ±1,8% para SEP. Por outra parte, cando se compara a capacidade preditiva de NIRS para a estimación da dixestibilidade da materia orgánica de mostras de mesturas *unifeed* coa dos mellores modelos empíricos baseados na composición química das mostras, se observa unha clara superioridade da técnica NIRS. Aplicada á estimación de DMO de mostras externas, o modelo de predición NIRS permitiu incrementar a porcentaxe de varianza explicada desde o 74% ao 83% e reducir o erro de predición un 8%, pasando de ±2,06% para a mellor ecuación empírica a ±1,89% para a ecuación NIRS.

A información obtida na bibliografía acerca do comportamento preditivo das ecuacións NIRS para estimar a dixestibilidade de mostras de racións completas para gando de leite é escasa, pero coincidente cos nosos resultados acerca da potencialidade de NIRS para estimar o valor de dixestibilidade destas mostras. No traballo de De Boever *et al*. (1995) onde se estudou a utilidade da técnica NIRS para a predición da dixestibilidade *in vivo* de mesturas de alimentos compostos por ingredientes de distinta natureza para gando vacún, se indica un erro de predición para DMO *in vivo* de ±2,1%, algo superior ao valor obtido no noso traballo, concluíndo que NIRS é unha técnica adecuada de análise do valor nutricional de alimentos compostos para ruminantes. Outros estudos mostran a boa capacidade preditiva das ecuacións NIRS para a estimación do valor da dixestibilidade das mostras de mesturas *unifeed*, en paralelo coa súa aptitude para a predición cuantitativa da composición química. Valiente *et al*. (2004) desenvolveron ecuacións NIRS para predicir o valor da dixestibilidade de distintas mesturas de cereal e palla, en proporcións desde 60:40 a 15:85 que foron avaliadas con ovinos (n=16), reportando unha satisfactoria predición de DMO *in vivo* con valores en calibración de 0,85 para R^2 e ±1,9 para SEC, mentres que en validación cruzada se obtivo un valor de 0,75 para o coeficiente de determinación en validación cruzada $1-VR$ e un erro de predición $SECV$ de ±2,6%, próximo ao erro de determinación da dixestibilidade *in vivo* que foi de ±2,2%. Utilizando un número de mostras moi superior, Mentink *et al*. (2006) reportan que a estimación NIRS da dixestibilidade (DOMD e DMS determinadas *in vitro*) dunha colección de 110 mostras de mesturas *unifeed* de granxas leiteiras norteamericanas foi de aceptábel calidade, mostrando as ecuacións seleccionadas valores en validación cruzada de 0,80 e 0,88 para $1-VR$, de 2,6 e 2,2 para RPD_{vc}, de 11,5 e 13,6 para RER_{vc} e un baixo erro de predición $SECV$ de ±1,4 e ±1,0%, respectivamente, o que evidencia a utilidade de NIRS para a estimación do valor enerxético das mesturas completas utilizadas na alimentación do gando vacún de leite, en concordancia cos nosos resultados.

5.11– Estimación da degradabilidade ruminal de ensilaxes de herba e de millo

O coñecemento da cinética de degradación ruminal das forraxes é un elemento clave na avaliación do seu valor nutricional, sendo a técnica *in situ* o método de referencia normalmente utilizado para obter os parámetros que permiten describir a forma da curva de degradación ruminal dos nutrientes e calcular a súa degradabilidade efectiva (Huhtanen *et al*., 2006a). Sen embargo o seu custo e a dependencia de animais canulados en rume e laboriosas incubacións durante varios días conduce a que, na práctica, se utilicen rutinariamente valores tabulados para seren utilizados nos programas de racionamento, estando aqueles suxeitos a un alto grao de imprecisión (Hvelplung e Weisjberg, 2000).

Diversos autores estudaron a utilidade de NIRS para a predición dos parámetros de degradabilidade ruminal de forraxes. Por exemplo, Jung *et al*. (1998) desenvolveron ecuacións NIRS para a súa predición en planta enteira de millo a partir de valores de referencia obtidos *in vitro*, mentres De Boever *et al*. (1998) indicaron que NIRS podía predicir a degradabilidade efectiva de mostras de pastos de gramíneas e de alfalfa con maior precisión que as ecuacións baseadas en parámetros químicos (PB e fibra), corroborando os resultados de Waters e Givens (1992), Atanassova *et al*. (1994) e Antoniewicz *et al.* (1995) que reportaban a relativamente alta correlación existente entre a información espectral das mostras analizadas e as características de degradabilidade medias polo método de referencia. Son menos frecuentes os traballos que fornezan de información acerca da utilidade de ecuacións baseadas en parámetros químicos, para tal propósito.

O rango de valores para os diferentes parámetros de degradabilidade *in situ* da colección de ensilaxes de herba e de ensilaxes de millo utilizados no presente traballo mostrou en conxunto unha ampla variabilidade, máis acusada para o primeiro grupo. Para as ensilaxes de herba o valor da degradabilidade teórica dos distintos compoñentes oscilou para $\boldsymbol{DT}_{MS}$ entre 36,3 e 71,1%, para $\boldsymbol{DT}_{PB}$ entre 33,7 e 86,0% e para $\boldsymbol{DT}_{FND}$ entre 15,1 e 43,9%. Os correspondentes valores para a colección de ensilaxes de millo foron para $\boldsymbol{DT}_{MS}$ entre 40,8 e 70,2%, para $\boldsymbol{DT}_{PB}$ entre 67,1 e 84,3%, para $\boldsymbol{DT}_{FND}$ entre 16,2 e 36,3% e para $\boldsymbol{DT}_{ALM}$ entre 73,9 e 96,3%.

Vanzant *et al*. (1989) revisan as numerosas fontes de variación que afectan aos resultados da técnica de incubación ruminal *in situ*, categorizados polas características do animal, dieta, tipo e preparación da mostra, procedemento de incubación, post-tratamento das bolsas

incubadas e tratamento matemático dos datos, así como as interaccións entre elas, o cal complica a comparación de resultados obtidos polos diferentes autores. Por exemplo, no noso estudo non se realizou a corrección de perdas de partículas finas das bolsas, cuxo efecto no resultado final é variábel dependendo dos autores. Ohlsson *et al*. (2007) por exemplo, observou unha menor precisión de estimación dos parámetros cando se corrixen as perdas de partículas das bolsas poden deberse a unha perda heteroxénea das bolsas, en concreto de PB, que non permite manter a asunción de que as partículas que escapan da bolsa teñen o mesmo perfil de degradación que as que permanecen na mesma tras o lavado (Weisbjerg *et al*., 1990).

Tendo en mente a diversidade de factores que afectan aos valores de degradabilidade ruminal, o rango de valores das nosas coleccións pode compararse co exposto por outros autores. Por exemplo, no traballo de von Keyserlingk *et al*. (1996) no que estudaron os valores de degradabilidade ruminal *in situ* dunha mostra de ensilaxes de herba (n=22) e de millo (n=12) de Canadá se indican rangos de valores de $\boldsymbol{DT}_{MS}$ de 37,5 a 73,8% e de $\boldsymbol{DT}_{PB}$ de 33,0 a 77,8% para as ensilaxes de herba, mentres que para as ensilaxes de millo o rango de valores foi de 56,8 a 68,4% para $\boldsymbol{DT}_{MS}$ e de 63,4 a 80,0 para $\boldsymbol{DT}_{PB}$, os cales resultan razoabelmente comparábeis cos datos da nosa colección. Neste traballo os autores conclúen que o uso de valores tabulares para describir os parámetros de degradabilidade destas forraxes é inadecuado, dada a variabilidade observada, sendo necesario o dispor dalgún método fiábel de predición. Hoffman *et al*. (1999) para unha colección de 121 ensilaxes de especies pratenses de Wisconsin (USA), indican un rango de valores de $\boldsymbol{DT}_{PB}$ entre 73,3 e 91,0%. Nun estudo realizado no SERIDA por De la Roza *et al*. (1998) a partir dunha colección de 53 ensilaxes de millo e 77 ensilaxes de herba analizados *in situ* para desenvolver calibracións NIRS dirixidas á predición dos parámetros de degradabilidade ruminal e a degradabilidade efectiva da MS e da PB, o conxunto da colección de mostras mostrou un rango de variación 50,7 a 75,6% para $\boldsymbol{DT}_{MS}$ e de 68,6 a 88,1% para $\boldsymbol{DT}_{N}$, próximo ao rango de valores das nosas coleccións. De Boever *et al*. (2002) para unha colección de 26 ensilaxes de millo belgas avaliados *in situ*, indican valores de $\boldsymbol{DT}_{PB}$ entre 52,3 e 76,5%, de $\boldsymbol{DT}_{FND}$ entre 44,2 e 61,3% e de $\boldsymbol{DT}_{ALM}$ entre 50,6 e 88,3%, sendo o rango de valores de degradabilidade efectiva da FND claramente máis elevados que o do conxunto de mostras de ensilaxe de millo utilizadas no presente traballo, o que se atribúe principalmente ao diferente valor de taxa fraccional de desaparición do rume, moito máis baixo no traballo dos autores belgas (0,25 veces o valor de $\boldsymbol{c}_{FND}$) que nos nosos cálculos, onde se tomou o valor fixo de 6% h^{-1}.

A pesar de que para a maior parte das forraxes a parede celular representa o substrato fermentábel no rume máis importante para a produción de enerxía, existe relativamente pouca información na bibliografía acerca dos valores da súa degradabilidade ruminal determinada *in situ,* estando a maior parte referida a determinacións *in vitro*. No traballo de Foskolos *et al* (2015), onde se avaliou a capacidade de NIRS para predicir os parámetros de degradabilidade ruminal medidos *in situ* dunha ampla colección de mostras de alimentos para o gando vacún, se citan valores de $\boldsymbol{DT}_{\mathrm{MS}}$ entre 33,0 e 83,0%, para $\boldsymbol{DT}_{\mathrm{PB}}$ entre 46,0 e 95,0% e de $\boldsymbol{DT}_{\mathrm{FND}}$ de entre 23 a 78% para un grupo de 135 forraxes diversos, nos que se incluían ensilaxes de herba (n=56) e de planta enteira de millo (n=34). Para un grupo de mostras gramíneas (n=61) de diversas localidades danesas que foron avaliadas *in situ*, Ohlsson *et al*. (2007) indican valores de $\boldsymbol{DT}_{\mathrm{MS}}$ entre 51,0 e 74,6%, para $\boldsymbol{DT}_{\mathrm{PB}}$ entre 64,0 e 83,1% e de $\boldsymbol{DT}_{\mathrm{FND}}$ de entre 44,0 e 63,0%. Como se pode observar, nos citados traballos os valores de $\boldsymbol{DT}_{\mathrm{FND}}$ son máis altos que na nosa colección, debendo terse en conta que en aqueles se tomou un valor de 2% h^{-1} para a taxa fraccional de desaparición do rume da FND, sendo no noso caso de 6% h^{-1}.

5.11.1 Ensilaxes de herba

Ecuacións empíricas

As ecuacións seleccionadas no presente traballo para a predición dos diferentes parámetros de degradabilidade das mostras de ensilaxes de herba que incluían como preditores parámetros da composición química mostraron en xeral unha pobre capacidade preditiva. Foi observada unha maior correlación entre os compoñentes químicos das mostras e a degradabilidade da MS en comparación coa observada para a degradabilidade da PB e a de esta comparada coa da FND. Os valores do coeficiente de correlación e do estatístico RPD_{vc} en validación cruzada para as ecuacións de predición de $\boldsymbol{DT}_{\mathrm{MS}}$, $\boldsymbol{DT}_{\mathrm{PB}}$ e $\boldsymbol{DT}_{\mathrm{FND}}$ foron, respectivamente, de 0,71 e 1,9, de 0,64 e 1,7 e de 0,45 e 1,4. Por outra banda, os valores da degradabilidade efectiva $\boldsymbol{DT}$ mostraron unha maior relación cos preditores químicos que os parámetros que describen a cinética de degradación ruminal, dentro dos cales a maior relación cos preditores químicos correspondeu á fracción inmediatamente solúbel $\boldsymbol{a}$ e a máis baixa á velocidade de degradación ruminal $\boldsymbol{c}$ da fracción lentamente degradábel. Seguindo os criterios de Shenk *et al.* (2001) e de Williams (2001) para clasificar a calidade das ecuacións en base aos valores de $1 - VR$ e de RPD_{vc}, as ecuacións empíricas seleccionadas unicamente permitirían realizar unha estimación cuantitativa aproximada dos valores de $\boldsymbol{DT}_{\mathrm{MS}}$, $\boldsymbol{DP}_{\mathrm{MS}}$ e da fracción $\boldsymbol{a}_{\mathrm{MS}}$,

mentres que sería posíbel realizar unha predición cualitativa básica para $\boldsymbol{DT}_{PB}$ e $\boldsymbol{b}_{FND}$, non sendo de utilidade preditiva as restantes ecuacións para os diferentes parámetros.

Na literatura existe un escaso número de traballos orientados á obtención de ecuacións para predicir os parámetros de degradabilidade ruminal *in situ* de ensilaxes en base a súa composición química. No traballo realizado por von Keyserlingk *et al*. (1996) onde se relacionaron os parámetros de degradabilidade ruminal *in situ* da PB dunha colección de 11 ensilaxes de herba coa súa composición química, se reporta a existencia dunha significativa correlación negativa entre o contido en FND e os valores da fracción $\boldsymbol{b}_{PB}$ (r= -0,73) e da degradabilidade efectiva $\boldsymbol{DT}_{PB}$ (r= -0,76), non acadando significación ningunha das restantes correlacións. Coincidindo parcialmente con estes resultados, no noso traballo as correlacións máis altas entre os valores dos parámetros de degradabilidade e a composición química se observaron para o contido en FND, mostrándose unha correlación significativa do contido en FND co valor de $\boldsymbol{DT}_{PB}$ e de $\boldsymbol{a}_{PB}$ (r= -0,65 e -0,43, respectivamente), sendo moito máis baixa e non significativa co valor de $\boldsymbol{b}_{PB}$ (r= 0,17). Para unha colección belga de 28 mostras de especies pratenses, das que 11 eran ensilaxes, que foron obxecto de avaliación da degradabilidade *in situ*, De Boever *et al*. (2004) reportan a existencia de correlacións significativas entre determinados parámetros de composición química e os valores de degradabilidade, que gardan similitude cos obtidos no noso estudo. Comparando os valores do coeficiente de correlación r observados a partir dos datos belgas e os obtidos no noso estudo estes foron, respectivamente, de -0,72 e -0,78 entre $\boldsymbol{a}_{MO}$ ($\boldsymbol{a}_{MS}$ no presente estudo) e FND, de 0,64 e 0,71 entre $\boldsymbol{c}_{MO}$ e PB e de -0,41e -0,60 entre $\boldsymbol{c}_{MO}$ ($\boldsymbol{c}_{MS}$ no presente estudo) e FND, de -0,68 e -0,43 entre $\boldsymbol{a}_{PB}$ e FND, de 0,49 e 0,25 entre $\boldsymbol{c}_{PB}$ e PB e de 0,69 e 0,60 entre $\boldsymbol{c}_{FND}$ e PB. No estudo de Jančík *et al*. (2008) onde se estudou a relación entre os valores do residuo de FND non dixestíbel (FNDI) tras a incubación durante 12 días no rume de vacas non lactantes e a composición química das mostras de cinco especies de gramíneas pratenses de diferente estado de madurez (n=60), se reporta que unha ecuación baseada no contido en LAD permitiu estimar FNDI cun coeficiente de determinación R^2= 0,78 sendo incrementado a 0,87 cando se usaba unha ecuación que incluía LAD, PB e FND, o cal suxire a posibilidade de predicir o residuo non degradado da parede celular tras tempos longos de incubación mediante ecuacións químicas, se ben no traballo non se realizou a validacións dos distintos modelos.

Ecuacións NIRS

Ao igual que o observado no anterior apartado, se observou unha maior relación entre os valores espectrais das mostras de ensilaxes de herba e os parámetros de degradabilidade ruminal *in situ* da MS e da PB comparado coa degradabilidade da FND. A relación foi máis alta co valor de $\boldsymbol{DT}_{MS}$, $\boldsymbol{DT}_{PB}$ e a fracción inmediatamente solúbel $\boldsymbol{a}_{MS}$ e $\boldsymbol{a}_{PB}$ en comparación cos restantes parámetros que definen a cinética de degradación ruminal, en particular co da velocidade de degradación ruminal ($\boldsymbol{c}$) da fracción lentamente degradábel, que mostrou o valor máis baixo. En función dos valores do coeficiente de determinación $1-VR$ e de RPD_{vc} obtidos en validación cruzada para as diferentes ecuacións NIRS e dos criterios de *Shenk et al*. (2001) e de Williams (2001) obtidas no noso traballo para a colección de ensilaxes de herba, podería realizarse unha predición cuantitativa de tódolos parámetros de degradabilidade da MS, FND e PB, salvo para as velocidades de degradación ruminal $\boldsymbol{c}_{MS}$, $\boldsymbol{c}_{FND}$ e $\boldsymbol{c}_{PB}$.

Estes resultados se corresponden, en liñas xerais, coas observacións xerais contidas na bibliografía e referidas a distintas forraxes. Como resumo dos resultados dos 11 traballos de investigación referidos á capacidade preditiva mediante ecuacións NIRS dos parámetros de degradabilidade ruminal de forraxes diversas que foron citados no apartado de revisión bibliográfica do presente traballo, na Táboa 95 se mostran os valores medios dos estatísticos que definen a calidade da predición NIRS dos diferentes parámetros, onde se pode observar que os parámetros preditos con maior precisión, en base aos valores do coeficiente de determinación en calibración R^2 e ao valor de RPD_{vc}, foron $\boldsymbol{DT}_{MS}$, $\boldsymbol{a}_{MS}$, $\boldsymbol{DT}_{PB}$, $\boldsymbol{a}_{PB}$, $\boldsymbol{b}_{PB}$ e $\boldsymbol{DT}_{FND}$ (R^2=0,76 a 0,88 e RPD_{vc}=2,2 a 2,8) indicando unha calidade preditiva entre moderada e mediocre, atendendo aos criterios de Williams (2001) para estimación destes parámetros, mentres que para a estimación de $\boldsymbol{b}_{MS}$, $\boldsymbol{b}_{FND}$, $\boldsymbol{c}_{N}$, $\boldsymbol{c}_{MS}$, e $\boldsymbol{c}_{FND}$ a calidade preditiva das ecuacións NIRS obtidas nos citados traballos non sería adecuada, con valores de RPD_{vc} inferiores a 2,0. Dado que a precisión da estimación de $\boldsymbol{DT}_{MS}$, $\boldsymbol{DT}_{PB}$ *e* $\boldsymbol{DP}_{PB}$ mediante as ecuacións NIRS é polo xeral superior á dos correspondentes parámetros que describen a cinética de degradación ruminal os resultados suxiren que a súa estimación directa por NIRS é preferíbel ao cálculo a traveso dos citados parámetros, independentemente do interese de dispor información acerca do valor destes para ser aplicado, no seu caso, polos programas de racionamento.

No traballo de Ohlsson *et al*. (2007) con mostras de raigrás inglés e dactilo do banco de xermoplasma do NIAB (Cambridge-UK) se confirmou que as predicións dos parámetros que

describen a cinética de degradación ruminal foi menos precisa que a da degradabilidade efectiva, obténdose valores de RPD_{vc} das ecuacións NIRS en validación cruzada de 3,5 para $\boldsymbol{DT}_{MS}$, de 2,2 para $\boldsymbol{DT}_{PB}$ e de 1,6 para $\boldsymbol{DT}_{FND}$, mostrando que a fiabilidade das ecuacións para a estimación dos parámetros de degradación da FND foron moi inferiores aos correspondentes á PB e estes, á súa vez, inferiores aos correspondentes á MS. Unicamente para a fracción inmediatamente solúbel da materia seca ($\boldsymbol{a}_{MS}$) o valor de RPD_{vc} foi superior a 2,5, sendo a calidade da predición da velocidade de degradación ruminal $\boldsymbol{c}$ sempre inferior á do resto dos parámetros, aspectos tamén observados no noso traballo.

Táboa 95.- Calidade das ecuacións NIRS para a predición dos parámetros de degradabilidade ruminal de forraxes procedentes dos traballos de diversos autores[§]

	n	R^2	*SECV*	*RPD*
Materia seca				
$\boldsymbol{a}_{MS}$	7	0,88	2,62	2,80
$\boldsymbol{b}_{MS}$	7	0,66	3,60	1,92
$\boldsymbol{c}_{MS}$	7	0,52	0,01	1,64
$\boldsymbol{DT}_{MS}$	6	0,86	2,98	2,71
Proteína bruta				
$\boldsymbol{a}_{PB}$	7	0,77	5,17	2,53
$\boldsymbol{b}_{PB}$	7	0,72	5,56	2,39
$\boldsymbol{c}_{PB}$	7	0,52	0,03	1,65
$\boldsymbol{DT}_{PB}$	8	0,84	3,18	2,24
Fibra neutro deterxente				
$\boldsymbol{b}_{FND}$	2	0,42	7,04	1,60
$\boldsymbol{c}_{FND}$	2	0,55	0,01	1,55
$\boldsymbol{DT}_{FND}$	2	0,76	3,35	2,25

$\boldsymbol{a}$: fracción inmediatamente degradábel (%); $\boldsymbol{b}$: fracción insolúbel pero potencialmente degradábel (%); $\boldsymbol{c}$: velocidade de degradación ruminal da fracción *b* (h^{-1}); $\boldsymbol{DP}$: degradabilidade potencial (%); $\boldsymbol{DT}$: degradabilidade teórica (%); *k*: taxa fraccional de paso no rume (h^{-1}); n: número de estudos; R^2: coeficiente de determinación do modelo de calibración; SECV: erro estándar de validación cruzada; RPD: ratio entre a desviación estándar e o erro de predición en validación cruzada.
[§]Todorov *et al*. (1994); Park *et al*. (1997); De la Roza *et al*. (1998); De Boever *et al*. (1998); Switf (2003); Lovett *et al*. (2004); Kański e Kowalski (2005); Andrés *et al*. (2005a); Mentink *et al*. (2006); Ohlsson *et al*. (2007); Foskolos *et al*. (2015)

A superioridade preditiva das ecuacións NIRS obtidas no presente traballo para a estimación dos parámetros que caracterizan a degradabilidade ruminal da MS, da PB e da FND de ensilaxes de herba, respecto do uso de ecuacións empíricas baseadas na composición química das mostras faise evidente de forma contundente a comparar a calidade das ecuacións, reproducindo a tendencia habitual dos resultados reportados na bibliografía, se ben a precisión obtida polas ecuacións NIRS desenvolvidas no noso estudo é polo xeral superior aos reportados por outros autores para diferentes forraxes pratenses. Por exemplo, De Boever

et al. (1998) comparando a capacidade preditiva de ecuacións de regresión baseadas no contido en PB e FB coa de calibracións NIRS para predicir a degradabilidade ruminal potencial e efectiva da proteína de distintas especies de gramíneas e alfalfa colleitadas en distintos ciclos e estados de madurez durante varios anos en Bélxica reportan unha pobre capacidade preditiva para as primeiras, con valores de R^2 entre 0,62 e 0,84 e de RPD entre 1,9 e 2,5, mentres que a predición destes parámetros por NIRS foi máis exacta e precisa, con valores do coeficiente de determinación en validación cruzada superiores a 0,90 e valores de RPD entre 2,4 e 4,2, poñendo de manifesto a aptitude preditiva das ecuacións NIRS para estimar a degradabilidade potencial e efectiva da PB en mostras de forraxeiras pratenses. Sen embargo, a validación externa das calibracións NIRS construída coas mostras belgas sobre unha colección de mostras do Reino Unido mostrou que o erro de predición se chegaba a multiplicar por un factor de 5 a 6 demostrando que a validez das ecuacións se restrinxía á zona de obtención das mostras de calibración e que a calidade da predición está fortemente influída pola forma de preparación da mostra. Utilizando unha reducida colección de raigrases do Reino Unido (n=19) que foron avaliados *in situ*, Waters e Givens (1992) obtiveron ecuacións significativas para a estimación do valor de $\boldsymbol{DT}_{PB}$ con PB como preditor (R^2=0,83 e 0,44, respectivamente) e para a estimación de $\boldsymbol{b}_{PB}$ utilizando o contido en FND (R^2=0,88) nas mostras de primeiro ciclo, sendo menos precisas as predicións realizadas para aos rebrotes, salientando que as ecuacións NIRS construídas sobre o conxunto das mostras se mostraron máis útiles para a predición da degradabilidade *in situ* que as ecuacións baseadas na composición química, con valores de R^2 de 0,41 para $\boldsymbol{a}_{PB}$, de 0,42 para $\boldsymbol{b}_{PB}$, de 0,18 para $\boldsymbol{c}_{PB}$, e de 0,74 para $\boldsymbol{DT}_{PB,}$ toda vez que os datos espectrais se correlacionaban significativamente con tódolos parámetros que caracterizan a cinética de degradabilidade ruminal do N tanto nos primeiros ciclos como nos rebrotes. Mellores resultados son indicados no traballo de Todorov *et al.* (1994) con 34 forraxes diversos, que reportaron valores do coeficiente de determinación en calibración R^2 de, respecivamente, 0,93 e 0,67 para $\boldsymbol{DT}_{MS}$ e $\boldsymbol{DT}_{PB}$, de 0,86, 0,78 e 0,60 para $\boldsymbol{a}_{MS}$, $\boldsymbol{b}_{MS}$ e c_{MS} e de 0,84, 0,87 e 0,56, para $\boldsymbol{a}_{PB}$, $\boldsymbol{b}_{PB}$ e c_{PB} 0,84 e 0,87 para $\boldsymbol{a}_{PB}$ e $\boldsymbol{b}_{PB}$, que son semellantes aos obtidos no presente traballo. Hsu *et al.* (1998) reportaron, para unha colección de mostras de cebada fresca e conservada, unha excelente calidade das ecuacións NIRS para a estimación da $\boldsymbol{DT}_{MS}$ con valores de RPD entre 4,0 e 4,6 superiores aos obtidos no presente estudo.

Hoffman *et al*. (1999), utilizando un conxunto de 32 mostras avaliadas *in situ* e procedentes de granxas de Wisconsin (USA), obtiveron satisfactorios resultados para a estimación por

NIRS dos valores da degradabilidade ruminal da PB de ensilaxes de herba con valores do ratio SD/SEC superior a 4,0 para $\boldsymbol{a}_{PB}$, $\boldsymbol{b}_{PB}$ e $\boldsymbol{DT}_{PB}$ e de 2,5 para $\boldsymbol{c}_{PB,}$ indicando unha excelente calidade preditiva das ecuacións para os tres primeiro parámetros e unha calidade moderada para o último. Sen embargo no traballo de Swift (2003) con 114 ensilaxes de herba de explotacións gandeiras da Columbria Británica de Canadá non se conseguen obter ecuacións NIRS robustas para a estimación da degradabilidade ruminal da PB, reportando valores en validación externa de $1-VR$ e de RPD de 0,74 e 2,0 para $\boldsymbol{a}_{PB}$, de 0,72 e 2,1 para $\boldsymbol{b}_{PB}$ e de 0,34 e 1,2 para $\boldsymbol{c}_{PB,}$ o que indica que as calibracións NIRS obtidas non se poden utilizar para realizar predicións cualitativas en análises de rutina. De la Roza *et al*. (1998) alcanzaron unha conclusión semellante á de Swift (2003) en base aos estatísticos RPD de 2,1, 2,3 e 1,3 para $\boldsymbol{a}_{PB}$, $\boldsymbol{b}_{PB}$ e $\boldsymbol{c}_{PB}$, obtidos sobre unha colección de ensilaxes de herba e de millo do norte de España. Os nosos resultados, se ben mostran unha mellor calidade das ecuacións NIRS, coinciden cos anteriores autores na sinalada menor capacidade preditiva para estimar a velocidade de degradación ruminal das diferentes compoñentes do alimento.

Similares resultados se obtiveron no traballo de Andrés *et al*. (2005a) que avaliaron a capacidade de ecuacións baseadas en parámetros químicos e ecuacións NIRS para predicir a degradabilidade ruminal *in situ* da MS e PB de pastos frescos e reportaron que era posíbel predicir o valor de $\boldsymbol{DT}_{MS}$ de forma precisa mediante NIRS (RPD = 3,1; RER = 11,6) e mediante unha ecuación baseada os contidos de FND, LAD e N ligado á FAD (RPD = 2,95; RER = 11,0), así como estimar cuantitativamente $\boldsymbol{a}_{MS}$ mediante ecuacións NIRS (RPD = 2,4, RER = 10,7), non sendo posíbel estimar o valor de $\boldsymbol{b}_{MS}$, $\boldsymbol{c}_{MS}$ nin de ningún dos parámetros de degradabilidade da PB. Os resultados confirman o apuntado por outros autores e os resultados do noso traballo en canto a que a predición dos parámetros de degradabilidade é menos precisa que a da degradabilidade efectiva e que a calidade da predición por NIRS é mellor que a proporcionada polas ecuacións baseadas en parámetros químicos.

5.11.2 Ensilaxes de planta enteira de millo

Ecuacións empíricas

As ecuacións baseadas na composición química que foron seleccionadas no presente traballo para a predición da degradabilidade ruminal das mostras de ensilaxes de millo mostraron globalmente unha capacidade preditiva moito máis baixa que a observada para o grupo de ensilaxes de herba. Este feito se relaciona coa menor variabilidade observada nos parámetros de degradabilidade da colección de ensilaxes de millo, que foi sempre máis baixa que a

observada no grupo de ensilaxes de herba salvo para o coeficiente da velocidade de degradación ruminal, con valores do coeficiente de variación da degradabilidade efectiva de 14,9 e 7,9% para $\boldsymbol{DT}_{MS}$, de 20,3 e 18,4% para $\boldsymbol{DT}_{FND}$ e de 9,2 e 5,5% para $\boldsymbol{DT}_{PB}$ nos grupos de ensilaxes de herba e de millo, respectivamente. Atendendo aos criterios de Shenk *et al*. (2001) e de Williams (2001) unicamente as ecuacións empíricas para a predición de $\boldsymbol{a}_{MS}$ e $\boldsymbol{DT}_{MS}$ terían unha utilidade para realizar unha predición cuantitativa aproximada, con valores de $1 - VR$ entre 0,70 e 0,80 e de RPD_{vc} entre 2,0 e 2,5.

As dificultades de predicir adecuadamente os parámetros de degradabilidade ruminal de ensilaxes de millo mediante ecuacións químicas se fan patentes pola acusada escasez de traballos na bibliografía acerca deste tema. No traballo realizado por von Keyserlingk *et al*. (1996), por exemplo, non se observaron correlacións significativas entre os diferentes parámetros de degradabilidade ruminal e a composición química das ensilaxes de millo, indicándose que os valores máis elevados do coeficiente de correlación r foron de -0,31 e 0,27, respectivamente, entre $\boldsymbol{a}_{PB}$ e os contidos de PB e FAD, de 0,38 entre entre $\boldsymbol{b}_{PB}$ e o contido en PB e de -0,27 entre $\boldsymbol{DT}_{PB}$ e N ligado á FAD. Os resultados obtidos no presente traballo mostran que, salvo para a velocidade de degradación ruminal $\boldsymbol{c}_{MS}$, existen correlacións significativas de media-alta intensidade dos valores de degradabilidade da MS, cos valores de fibra e cos carbohidratos non estruturais, con valores de r entre -0,88 e -0,90 e entre 0,78 e 0,73, respectivamente, mentres que para a degradabilidade do amidón, da FND e sobre todo da PB as correlacións son moito máis baixas ou non significativas. Como indican diversos autores, entre eles Andrés *et al.* (2005a) a estimación da degradabilidade da PB é normalmente menos precisa que a da MS, probabelmente debido a un maior erro na determinación dos valores de referencia causado pola contaminación microbiana dos residuos de incubación nas bolsas.

Ecuacións NIRS

Ao igual que se indicou no apartado anterior, a calidade das predicións das ecuacións NIRS para estimar os parámetros de degradabilidade ruminal das mostras de ensilaxes de millo foi globalmente inferior á observada para as ensilaxes de herba o que se relaciona, como se comentou, coa menor variabilidade dos parámetros de degradabilidade ruminal da colección de ensilaxes de millo. Os resultados obtidos mostran que, atendendo aos criterios de Shenk *et al*. (2001) e de Williams (2001), sería posíbel realizar a predición cualitativa dos valores de $\boldsymbol{a}_{MS}$, $\boldsymbol{b}_{MS}$ e $\boldsymbol{DT}_{MS}$ con aceptábel fiabilidade, mentres que o mediocre axuste obtido para as

ecuacións de predición de $\boldsymbol{DP}_{MS}$, $\boldsymbol{DT}_{PB}$, $\boldsymbol{b}_{FND}$, $\boldsymbol{a}_{ALM}$, $\boldsymbol{b}_{ALM}$ e $\boldsymbol{DT}_{ALM}$ só permitiría realizar unha predición cualitativa en rangos (alto, medio e baixo). As ecuacións NIRS para os restantes parámetros de degradabilidade das mostras de ensilaxe de millo non mostraron utilidade preditiva o cal se atribúe, fundamentalmente, aos erros de determinación do método de referencia e ao relativamente escaso número de mostras que compuñan a colección de calibración.

A dificultade de predicir a taxa de degradación ruminal dos nutrientes por NIRS foi indicada, entre outros, por Herrero *et al.* (1997), Andrés *et al*. (2005a), Nordheim *et al.* (2005), Ohlsson *et al*. (2007) e Foskolos *et al*. (2015) sinalando a natureza exponencial dos modelos usados na parametrización así como as numerosas fontes de erro que afectan ao método de referencia entre as causas de tal dificultade. A menor precisión de NIRS para estimar os parámetros de degradabilidade da PB, en comparación co observado para a degradabilidade da MS foi observada por outros autores, o cal como indican Todorov *et al*. (1994), Antoniewicz *et al*. (1995) e Kański e Kowalski (2001) se atribúe ao maior erro da determinación da degradabilidade *in situ* da PB a causa da contaminación microbiana dos residuos das incubacións, aspecto xa citado anteriormente. Por outra banda, o valor de $\boldsymbol{DT}_{FND}$ é difícil de predicir por NIRS, debido á ampla variabilidade existente entre animais e aos erros no método de referencia no laboratorio na determinación de FND (Ohlsson *et al*., 2007), o que suxire a necesidade de utilizar bases de datos máis amplas e de estandarizar adecuadamente as determinacións *in situ* para obter calibracións NIRS satisfactorias para a estimación da degradabilidade ruminal da parede celular.

En opinión de Ohlsson *et al*. (2007), a limitación máis seria das ecuacións para a estimación dos parámetros da fraccións solúbel $\boldsymbol{a}$, da insolúbel pero potencialmente degradábel $\boldsymbol{b}$ e da velocidade de degradación $\boldsymbol{c}$ que definen a cinética da degradabilidade das mostras é que están interrelacionados e por tanto non poden ser calculados independentemente, razón pola cal a estimación directa da degradabilidade efectiva producirá mellores resultados comparada coa predición do parámetros individuais seguida do cálculo da degradabilidade efectiva usando os valores fraccionais, o cal se ve confirmado polos resultados obtidos no presente traballo.

Na bibliografía se encontra algún traballo onde a predición da degradabilidade de mostras de ensilaxes de millo por NIRS foi de inferior calidade comparada con outros métodos indirectos. Para unha colección de ensilaxes de planta enteira de millo (n=26) colleitados nun estado normal de madurez, De Boever *et al*. (2002) determinaron *in situ* os parámetros que

descreven a cinética de degradación ruminal da MO, PB, ALM e FND reportando que a precisión obtida polas calibracións NIRS foi sempre máis baixa comparada coa lograda polas ecuacións baseadas na fracción lavábel ou en parámetros químicos, indicando que a razón podía ser parcialmente debida á falta de homoxeneidade da mostra incubada *in situ*, en estado fresco, mentres que a analizada por NIRS era seca e moída.

Sen embargo polo xeral a calidade das predicións NIRS para a predición da degradabilidade ruminal das forraxes superan contundentemente os resultados obtidos polas ecuacións que utilizan datos químicos, tal e como se confirmou no presente traballo para as mostras de ensilaxes de herba e particularmente nas de ensilaxes de millo, onde a calidade das predicións das ecuacións empíricas foi moi pobre. Como indican, entre outros autores, Andrés *et al*. (2005a) o espectro NIRS contén información asociada con tódalas entidades químicas da mostra e dada a relación, máis ou menos elevada, dos parámetros de degradabilidade ruminal cos compoñentes químicos, é de esperar unha mellor predición NIRS comparada coa de ecuacións con parámetros químicos como preditores. Ademais o espectro NIRS contén información relacionada coas propiedades físicas da mostra, e estas propiedades poden ter unha influencia significativa no valor da degradación da MS no rume. No traballo de Andrés *et al*. (2005a) non se conseguiu estimar satisfactoriamente os parámetros da cinética da degradación ruminal da FND de pastos permanentes sendo unicamente posíbel predicir de forma aproximadamente cuantitativa mediante ecuacións NIRS o valor do residuo indixestíbel da FND tras longos tempos de incubación no rume (48 ou 72 h), con valores de RPD entre 2,3 e 2,4, mentres que as ecuacións baseadas en parámetros químicos, con valores RPD de 2,1 mostraron unha menor fiabilidade preditiva.

Outros traballos como o de Lovett *et al.* (2004) sinalan que a perda de partículas finas das bolsas de nailón durante as incubacións *in situ* son causa das imprecisións observadas na estimación por NIRS dos parámetros de degradabilidade da MS, especialmente alta nas mostras de ensilaxes de millo debido ao seu contido en amidón. Neste traballo, realizado sobre unha colección de 48 mostras de ensilaxes de millo cultivados na Universidade de Reading (UK) se obtivo un pobre resultado das ecuacións NIRS de predición da cinética da degradabilidade ruminal da MS, con valores en validación cruzada do estatístico RPD_{vc} para os parámetros $\boldsymbol{a}_{\mathrm{MS}}$, $\boldsymbol{b}_{\mathrm{MS}}$ e $\boldsymbol{c}_{\mathrm{MS}}$ de 1,3, 1,1 e 0,8, todos eles moi inferiores aos observados no presente traballo. Entre os resultados do proxecto *Maize Silage NIRS* cuxo obxectivo era obter ecuacións NIRS para predicir a degradabilidade ruminal *in situ* da MS e amidón de ensilaxes de millo no Reino Unido, Shelley (2013) reporta que non se atoparon ecuacións

NIRS que permitiran unha satisfactoria estimación dos parámetros $\boldsymbol{a}$, $\boldsymbol{b}$ e $\boldsymbol{c}$ que descreven a degradabilidade ruminal da MS e do ALM das mostras de ensilaxe de millo. Unicamente na estimación do parámetro $\boldsymbol{a}_{MS}$ a varianza explicada pola ecuación NIRS chegou ao 80%, obtendo un valor de RPD de 2,3, que permitirían unha clasificación cualitativa das mostras. Para o resto dos parámetros estudados ($\boldsymbol{b}_{MS}$ e $\boldsymbol{c}_{MS}$) a porcentaxe de varianza explicada foi inferior ao 50% e os valores de RPD foron inferiores a 1,5, mentres que para todos os parámetros da cinética de degradabilidade do ALM a porcentaxe de varianza explicada foi inferior ao 45% e os valores de RPD foron inferiores a 1,5, como no caso anterior.

Swift (2003) avaliou a capacidade de NIRS para a predición da degradabilidade ruminal *in situ* da MS e PB en ensilaxes de millo da Columbia Británica de Canadá (n=191) observando unha peor relación entre os datos espectrais e as fraccións lentamente degradábel e a súa velocidade de degradación comparada coa existente para a fracción solúbel e o valor de degradabilidade teórica, reportando valores de RPD en validación cruzada de 2,8 para $\boldsymbol{a}_{MS}$, 1,7 para $\boldsymbol{b}_{MS}$, 1,2 para $\boldsymbol{c}_{MS}$ e 1,6 para $\boldsymbol{DT}_{MS}$, de 3,2 para $\boldsymbol{a}_{PB}$, 2,2 para $\boldsymbol{b}_{PB}$, 1,1 para $\boldsymbol{c}_{PB}$ e 2,7 para $\boldsymbol{DT}_{PB}$, concluíndo a autora que NIRS é una opción viábel para a predición da degradabilidade efectiva da PB en ensilaxe de millo pero non en ensilaxes de herba. A maior precisión na estimación dos valores de degradabilidade da PB en comparación coa da MS non se corresponde cos resultados obtidos no noso traballo, a pesar de que en ambos casos non se realizou a corrección pola posíbel contaminación das mostras por proteína microbiana nin polas perdas de partículas finas das mostras. Unha posíbel razón é que o menor contido medio de case 2 puntos do valor de PB das mostras de ensilaxe de millo do presente traballo, comparado co de Swift (2003) puidera ter influído nun maior efecto da contaminación microbiana e por tanto na menor precisión observada nas ecuacións NIRS na estimación da degradabilidade da proteína no presente traballo.

De la Roza *et al*. (1998), utilizando unha colección de 53 ensilaxes de millo e 77 ensilaxes de herba analizados *in situ* no SERIDA reportan valores de RPD en validación cruzada de 3,9 para $\boldsymbol{a}_{MS}$, de 2,8 para $\boldsymbol{b}_{MS}$, de 1,7 para $\boldsymbol{c}_{MS}$ e de 2,8 para $\boldsymbol{DT}_{MS}$, e de 2,1 para $\boldsymbol{a}_{PB}$, de 2,3 para $\boldsymbol{b}_{PB}$, de 1,3 para $\boldsymbol{c}_{PB}$ e de 2,7 para $\boldsymbol{DT}_{PB}$, concluíndo que a calidade preditiva das ecuacións NIRS foi máis alta para a estimación dos parámetros de degradabilidade da MS que para a PB e que a taxa fraccional de degradación non foi adecuadamente predita por NIRS, logrando unha satisfactoria capacidade de predicir cuantitativamente os parámetros de degradación ruminal así como a degradabilidade efectiva da MS e da PB das ensilaxes. Os resultados

deste traballo mostran valores aproximadamente intermedios entre os observados no noso estudo para as calibracións NIRS para ensilaxes de herba e para ensilaxes de millo.

5.12 – Estimación de parámetros fermentativos de ensilaxes de herba e de millo

O pH e os produtos de fermentación das ensilaxes (ácido láctico, ácidos graxos volátiles, N amoniacal e solúbel e etanol) son parámetros de calidade que afectan á inxestión voluntaria, á produción de leite e ao seu sabor e olor (Steen *et al*., 1998; Randby *et al*., 1998), polo que distintos autores desenvolveron estudos que dirixiron o seu obxectivo á obtención de calibracións NIRS para estimar de forma rápida a calidade fermentativa das ensilaxes.

5.12.1 Modelo xeral

A composición das coleccións de mostras de ensilaxes de herba e de planta enteira de millo utilizadas no presente traballo no desenvolvemento de ecuacións NIRS para a predición dos parámetros fermentativos contiña unha ampla variabilidade, recollendo o rango de valores habitualmente encontrados nas mostras procedentes das explotacións leiteiras galegas. Comparando o rango de valores de produtos de fermentación das mostras de ensilaxes de herba e de ensilaxes de millo empregadas na calibración das ecuacións NIRS no presente traballo cos das mostras recibidas no Laboratorio Agrario e Fitopatolóxico de Galicia (LAFIGA) procedentes de explotacións leiteiras que foron analizados por métodos de referencia durante tres campañas (G. Flores, comunicación persoal) se pode apreciar unha razoábel similitude, con valores medios (e rangos de variación) respectivos para a nosa colección e as mostras do LAFIGA de ensilaxes de herba de pH 4,37 (3,50 a 5,70) e 4,29 (3,37 a 6,63), de ácido láctico (%MS) 5,9 (0,0 a 18,3) e 5,8 (1,0 a 14,4), de ácido acético (%MS) 2,8 (0,0 a 8,1) e 1,76 (0,0 a 8,3), de N-NH_3 (%N total) 10,2 (1,3 a 39,1) e 6,9 (0,0 a 40,1) e de N-Solúbel (%N total) 46,8 (15,7 a 85,1) e 46,9 (19,9 a 74,6), sendo os respectivos valores para as ensilaxes de millo de pH 3,80 (3,40 a 4,71) e 3,76 (3,2 a 4,3), de ácido láctico (%MS) 3,8 (0,0 a 13,0) e 5,2 (1,2 a 14,0), de ácido acético (%MS) 1,5 (0,14 a 3,8) e 1,8 (0,0 a 9,7) e de etanol (%MS) 1,2 (0,0 a 5,6) e 1,4 (0,0 a 6,0).

Como se deduce dos datos citados, a variabilidade dos parámetros fermentativos das nosas coleccións, medida polo respectivo coeficiente de variación foi lixeiramente superior para as ensilaxes de herba en comparación coas ensilaxes de millo para os contidos de láctico (CV=

65,5 vs. 60,3%), acético (CV= 62,9 vs. 58,6%) e N-Solúbel (CV= 23,5 vs. 21,1%), sendo claramente máis alta para o valor do pH (CV= 10,5 vs. 3,8%) e de N-NH_3 (CV= 58,3 vs. 30,3%). Outros autores coinciden en reportar unha maior variabilidade, en xeral, dos produtos de fermentación das ensilaxes de herba comparadas cos de millo. Por exemplo, no traballo de Reeves *et al*. (1989) para un grupo de 60 ensilaxes de alfalfa e outro de 60 ensilaxes de millo de explotacións de Virginia e Indiana (USA) indican un coeficiente de variación de 8-16% vs. 6-13% para pH, de 81-88% vs. 32-35% para láctico, de 72-74% vs. 50-54% para acético e de 51-62% vs. 37-62% para N-NH_3 e no de Sørensen (2004) a partir dunha colección de 392 mostras de ensilaxes de herba e 227 mostras de ensilaxes de millo procedentes do sur de Suecia e de Dinamarca, indican valores respectivos do coeficiente de variación dos parámetros fermentativos de 9,5 vs. 3,8% para pH, 44,9 vs. 29,3% para láctico, 70,4 vs. 52,6% para acético, 114,3 vs. 78,6% para etanol e 31,8 vs. 35,7% para N-NH_3.

As ecuacións NIRS construídas no presente estudo para a predición dos parámetros fermentativos do conxunto de mostras de ensilaxes de herba e de millo mostraron, atendendo os criterios de Shenk *et al*. (2001) e de Williams (2001), unha excelente ou boa capacidade preditiva en validación cruzada para a estimación cuantitativa de pH, ácidos láctico e acético, N-Solúbel e N-NH_3 con valores de $1-VR$ próximos ou superiores a 0,90 e de RPD_{vc} próximos ou superiores a 3,0. Sen embargo en validación externa os modelos de predición mostraron en xeral un mediocre axuste, que permitiría realizar unha predición cuantitativa aproximada, seguindo os criterios de Williams (2014), para as ecuacións NIRS para a estimación de pH e láctico (r^2 > 0,80 e RPD_{ve} entre 2,0 e 2,5), mentres que as ecuacións para a predición de acético e de N-Solúbel (r^2 entre 0,70 e 0,80 e RPD_{ve} entre 1,5 e 2,0) serían unicamente aptas para realizar unha clasificación en rangos (Saeys *et al*., 2005), non sendo de utilidade preditiva en coleccións de mostras independentes a ecuación de estimación de N-NH_3, con valores de RPD_{ve} < 1,5. Os resultados indican, por tanto, que os modelos xerais obtidos no presente traballo para a predición dos parámetros fermentativos de ensilaxes de herba e de planta enteira de millo mostraron un bo axuste e unha relativamente alta precisión das estimacións en validación cruzada pero que, aplicados a un conxunto independente de mostras, se mostraron menos exactas e precisas, indicando que no conxunto de calibración non estaría suficientemente representada a variabilidade existente na colección de mostras externas.

En todo caso, a revisión do traballos da bibliografía mostra que as ecuacións NIRS obtidas no nos estudo mostran un poder preditivo igual ou superior á maioría das referencias

encontradas e coinciden coa maioría dos traballos na observación dun mellor axuste, en xeral, das calibracións para a predición dos contidos en ácido láctico, en N-NH_3 e do valor de pH en comparación co contido en ácido acético nos dous tipos de ensilaxes e co contido e acético, nas ensilaxes de millo. Como media dos traballos de Reeves *et al*. (1989), Corson *et al*. (1999), Cozzolino *et al*. (2003), Sørensen (2004), Park *et al*. (2005), Fassio *et al*. (2007), Ibañez e Alomar (2008), Restaino *et al*. (2009) e Dias (2015), revisados na Táboa 16, os parámetros fermentativos medidos con mellor precisión polas ecuacións NIRS indicadas na bibliografía foron o ácido láctico (R^2 = 0,82; RPD = 3,1), o ácido acético (R^2 = 0,76; RPD = 1,6), o pH (R^2 = 0,69; RPD = 2,0) e o contido en N-NH_3 (R^2 = 0,68; RPD = 2,0), sendo de boa calidade, en base a estes valores medios, unicamente as ecuacións NIRS para a predición de láctico e de mediocre calidade as de predición de N-NH_3, pH e acético. O valor de R^2 das ecuacións para estimación dos parámetros fermentativos tende a ser superior para as ensilaxes de herba en comparación coas ensilaxes de millo, con valores, respectivamente, de 0,88 e 0,80 da ecuación NIRS para a estimación do contido en ácido láctico, de 0,78 e 0,76 para o de acético, de 0,73 e 0,59 para o valor de pH e de 0,66 e 0,69 para o contido en N-NH_3. Comparando estes valores cos obtidos no presente traballo, alén do mellor axuste conseguido polas nosas ecuacións para a predición do produtos de fermentación das ensilaxes de herba e de millo se observa que a capacidade preditiva das ecuacións NIRS é aproximadamente semellante en ambos grupos, a pesar da comentada menor variabilidade dos diferentes parámetros fermentativos nas ensilaxes de millo, probabelmente debido ao elevado número de mostras con análises de referencia desta colección.

Non hai moita información sobre a utilidade de modelos universais para a predición NIRS dos parámetros fermentativos de ensilaxes de herba e de millo. Reeves *et al*. (1989) comparou a precisión de ecuacións NIRS construídas sobre un conxunto de 120 mostras frescas de ensilaxes de alfalfa e de plante enteira de millo de granxas de Virxinia e Indiana (USA), indicando que das ecuacións obtidas sobre o conxunto das mostras, unicamente permitía unha predición aproximada cualitativa en validación externa do contido en N-NH_3, con valores de r^2 = 0,82 e de RPD_{ve} = 2,3, mentres que o axuste das ecuacións para a estimación do valor de pH e dos contidos en ácidos láctico e acético era moi pobre, con valores de RPD_{ve} inferiores a 1,5, indicando a escasa utilidade preditiva das ecuacións globais para estimar a calidade fermentativa de ensilaxes. A construción das ecuacións NIRS realizadas por separado para ambas coleccións, mellorou globalmente a calidade das predicións, con valores de r^2 e RPD_{ve} en validación externa de 0,90 e 3,1 e de 0,75 e 1,8 para

a estimación de N-NH_3, de 0,82 e 1,8 e de 0,72 e 1,7 para pH, de 0,73 e 1,8 e 0,66 e 1,7 para o contido de láctico e de 0,66 e 1,2 e de 0,52 e 1,1 para o de acético nos grupos de ensilaxes de alfalfa e de millo, respectivamente.

A observación do mellor comportamento preditivo para as ecuacións específicas fronte ao modelo xeral é confirmado polos nosos resultados, toda vez que os modelos NIRS para a estimación dos parámetros fermentativos construídos por separado para as coleccións de ensilaxes de herba e de millo se mostraron, en xeral, máis precisos que o modelo xeral, sobre todo no axuste aos grupos de validación externa, mostrando unha maior robustez das ecuacións.

5.12.2 Ensilaxes de herba

Os resultados obtidos no presente traballo en canto á calidade das estimacións dos parámetros fermentativos das mostras das coleccións de ensilaxes de herba mostraron en xeral valores superiores aos referidos na bibliografía. As ecuacións NIRS para ensilaxes de herba mostraron en validación externa unha aceptábel robustez para a predición cuantitativa dos parámetros fermentativos (pH, ácidos láctico e acético, N-Solúbel e N-NH_3) de mostras independentes, con valores de r^2 entre 0,84 e 0,89, valores de RPD_{ve} entre 2,5 e 3,0 e valores de RER_{ve}> 10, segundo os criterios de Williams e Sobering (1996) e de Williams (2014).

A maior parte dos traballos da bibliografía relativos á predición por NIRS dos parámetros fermentativos de ensilaxes se realizaron presentando a mostra en estado fresco ao instrumento para a lectura do seu espectro. Abrams *et al*. (1988) obtiveron ecuacións NIRS que predicían adecuadamente os contidos en ácidos láctico, acético e butírico de ensilaxes de especies pratenses (n=57) presentados en estado fresco, con valores do coeficiente de determinación en calibración R^2 e do ratio SD/SEC de, respectivamente, 0,82 e 2,3 para láctico e de 0,78 e 2,0 para acético, se ben estas ecuacións non foron validadas. Snyman e Joubert (1992) mostraron que os ácidos de fermentación de ensilaxes de sorgo se podían predicir adecuadamente por NIRS se previamente os ácidos se convertían nas súas correspondentes sales antes do secado das mostras, para evitar a súa volatilización, obtendo ecuacións NIRS que en validación externa mostraron valores de r^2 de 0,85 para a estimación de láctico, de 0,92 para a de acético e de 0,88 para o contido en N-NH_3, consideradas todas elas satisfactorias para realizar unha predición cuantitativa. Sinnaeve *et al.* (1994), usando mostras de ensilaxes de herba en estado fresco, mostraron que é posíbel obter ecuacións NIRS de aceptábel calidade para a predición de pH e dos contidos en N-NH3 e ácidos acético e láctico

con valores do coeficiente de determinación en validación externa r^2 de 0,90, 0,93, 0,86 e 0,85, respectivamente. Deaville e Givens (1996), traballando sobre un conxunto de 800 ensilaxes de herba, mostraron a capacidade de NIRS para predicir o contido en ácido láctico e ácidos graxos volátiles cando se rexistra o espectro de mostras frescas, indicando un coeficiente de determinación dos modelos de calibración de 0,73 para láctico e de 0,69 para acético, mentres que en validación externa dicho coeficiente era, respectivamente, de 0,43 e de 0,66.

De forma similar, Park *et al*. (1998) reportaron que NIRS podía predicir adecuadamente o contido en ácidos de fermentación, en N-NH_3 e en etanol de ensilaxes de herba utilizando mostras húmidas, sendo o parámetro mellor predito o contido en N amoniacal, con valores en validación cruzada de 0,92 para o coeficiente de determinación e de 4,0 para o estatístico RPD_{vc}. As calibracións para os ácidos de fermentación foron lixeiramente peores, con valores do coeficiente de determinación e de RPD_{vc} en validación cruzada de 0,83 e 2,4 para láctico e butírico, de 0,77 e 2,8 para etanol e de 0,73 e 2,0 para acético, mentres que a predición para pH era boa, obtendo un valor do coeficiente de determinación de 0,91 e de 3,6 para RPD_{vc}. Nun traballo posterior, Park *et al*. (2002) compararon 5 tratamentos de conservación de mostras frescas de ensilaxes de herba, que incluían secuencias de conxelado-desconxelado con diferentes intervalos temporais, indicando unha aceptábel calidade das ecuacións NIRS para estimar o valor de pH, e as concentracións de ácido láctico e a total de ácidos graxos volátiles, independentemente do procesado das mostras antes da lectura no aparato.

No traballo con ensilaxes de millo do Reino Unido, Shelley (2013) conseguen predicir cuantitativamente de forma aproximada o pH de mostras húmidas reportando valores en validación cruzada de 0,83 para $1-VR$, de 2,7 para RPD e de 12,9 para RER. Park *et al.* (2015) desenvolveron calibracións NIRS para estimar parámetros fermentativos de mostras frescas (n=309) de ensilaxe de sorgo e de pasto do Sudán procedentes de granxas de Corea do Sur, reportando unha aceptábel calidade para a predición do valor de pH, con valores en validación cruzada de 0,77 para $1-VR$ e de 4,1 para RPD, mediocre para a predición de láctico ($1-VR$ = 0,63; RPD = 2,2) e moi pobre para a predición de acético ($1-VR$= 0,44; RPD = 2,6).

En ocasións a utilización de mostras húmidas non permite obter predicións satisfactorias mediante NIRS dos produtos de fermentación das ensilaxes, sendo unha das causas a menor repetibilidade dos resultados debido a unha maior heteroxeneidade do material. Por exemplo, no traballo de Kennedy (1996), realizado sobre 67 mostras de ensilaxes de herba tomadas en

granxas de leite de Canadá e presentadas ao instrumento en estado intacto, as ecuacións NIRS mostraron un reducido potencial para a estimación da concentración dos ácidos de fermentación, reportando valores de RPD en validación externa para estimar os contidos de láctico e acético de, respectivamente, 1,3 e 1,7, todos eles por debaixo do umbral de 2,0 que posibilitaría o uso das ecuacións para clasificación cualitativa das ensilaxes (Williams, 2014).

Outros traballos mostran a capacidade de NIRS para estimar adecuadamente a calidade fermentativa das ensilaxes cando se utilizan mostras secas, como foi realizado no presente traballo, se ben os resultados presentados na bibliografía presentan unha gran variabilidade en canto á capacidade preditiva e a utilidade práctica das ecuacións, ao igual que acontecía cando se utilizan mostras en estado fresco. Utilizando unha colección de mostras de ensilaxe de herba analizadas por métodos de referencia no CIAM, Castro (2002) non consegue obter ecuacións NIRS de utilidade para a estimación dos parámetros fermentativos, reportando valores do coeficiente de determinación en validación externa para mostras secas e moídas e mostras frescas de, respectivamente, 0,51 e 0,38 para pH, de 0,56 e 0,35 para ácido láctico, de 0,14 e 0,11 para ácido acético e de 0,31 e 0,16 para N-NH_3, todos eles claramente por debaixo do limiar indicativo dunha aceptábel calidade, achacando os peores resultados conseguidos coas mostras frescas a unha maior variabilidade dos resultados debido á heteroxeneidade do material. Dias (2015) para un colectivo de 200 mostras secas e moídas de ensilaxes de herba de granxas leiteiras da Illa Terceira (Açores, Portugal), obtivo valores de RPD, respectivamente, de 1,44 para pH e 1,08 para o contido en N-NH_3, que non resultaron satisfactorios para a predición cuantitativa dos citados parámetros. Mellores resultados se obtiveron no traballo de Sørensen (2004), onde se indica unha mellor precisión das ecuacións NIRS para a predición do pH e dos compostos con baixa volatilidade durante o secado con calibracións desenvoltas con mostras secas e moídas, non sendo posíbel estimar o contido en etanol con este material. O autor reporta a obtención dun axuste excelente ou bo das ecuacións NIRS con mostras secas para a predición do valor de pH, de ácido láctico e de N-NH_3, con valores en validación cruzada de 0,92, 0,96 e 0,89 para $1-VR$ e de 4,8, 6,3 e 3,1 para RPD, respectivamente, sendo pobre o da estimación de acético ($1-VR$= 0,68 e RPD_{vc}= 2,0). O peor comportamento preditivo das ecuacións para a estimación do contido en acético, observado tamén no noso traballo, se relaciona coa súa maior volatilidade durante o secado en comparación coa de N-NH_3 e sobre todo coa do ácido láctico, ambas moito máis reducidas. No estudo realizado por Ibáñez e Alomar (2008) se desenvolveron ecuacións NIRS sobre unha ampla colección de mostras secas de ensilaxes de herba de pradeira de

Chile (n=920), obtendo un mediocre axuste na estimación do pH e do contido en N-NH_3 (%N total), con valores en validación cruzada de 0,74 e 0,72 para o coeficiente de determinación $1 - VR$ e de 1,8 e 1,6 para o estatístico RPD, o que evidenciaría a posibilidade de seren útiles unicamente para o seu uso en clasificación por rangos. A baixa correlación entre os valores de pH e N-NH_3 e os respectivos valores espectrais foi atribuída ao feito de que as análises realizadas por métodos de referencia se levaron a cabo sobre mostras frescas, mentres que os espectros se determinaron sobre mostras secas. Como indica Cozzolino *et al*. (2003) na determinación do pH por NIRS existe unha resposta óptica á concentración de grupos –OH da mostra, co cal a pesar da baixa calidade da ecuación, NIRS consegue rescatar un sinal químico do que estaba presente na mostra fresca en relación a esas fraccións, corroborando as observacións de outros autores (Shenk, 1992; Sørensen *et al*., 2004) que contribúen a explicar, asemade, os favorábeis resultados obtidos nas nosas calibracións NIRS construídas con mostras secas e moídas incluso para os parámetros con alto grao de volatilidade durante o secado en estufa.

Os modelos NIRS para a predición da calidade fermentativa de mostras de ensilaxes de herba construídos a partir da colección de mostras destas forraxes mostraron maior robustez e fiabilidade que os modelos xerais construídos con toda a colección de mostras de ensilaxes cando se aplicaron a un conxunto de mostras independentes que non foron utilizadas para construír os modelos preditivos. A ulterior mellora na exactitude e precisión das ecuacións requiriría ampliar o conxunto de calibración con novas mostras que recolleran novas fontes de variabilidade existentes na práctica e non incorporadas aínda na colección de calibración.

5.12.3 Ensilaxes de planta enteira de millo

Ao igual que aconteceu co grupo de ensilaxes de herba, as ecuacións NIRS construídas no presente traballo para a colección de ensilaxes de millo mostraron en validación externa un axuste aceptabelmente robusto para a estimación dos valores de pH, ácidos láctico e acético, N-Solúbel e N-NH_3 con valores de r^2 entre 0,81 e 0,92, RPD_{ve} entre 2,5 e 3,5 e $RER_{ve} > 10$ que indica a posibilidade de realizar predicións cuantitativas en mostras independentes, sendo menos fiábel a predición do contido en etanol ($r^2 = 0{,}81$, $RPD_{ve} = 2.3$ e $RER_{ve} = 10{,}5$) que só permite a predición en rangos cualitativos do seu contido (Williams e Sobering, 1996 e Williams, 2014). Os resultados obtidos no presente traballo en canto á calidade das estimacións dos parámetros fermentativos das mostras de ensilaxe de millo mostraron valores

superiores aos referidos na literatura, excepto para a ecuación de predición NIRS do contido en etanol, que mostrou unha calidade preditiva mediocre.

Algúns traballos indican as dificultades de obter ecuacións NIRS para predicir parámetros fermentativos de ensilaxes de millo. Por exemplo, Corson *et al*. (1999) obtiveron unha excelente predición NIRS para a estimación da concentración de ácido láctico en mostras secas de ensilaxes de millo australianos, mentres que a calidade de predición do valor de pH foi pobre, con valores do coeficiente de determinación en calibración (R^2) de 0,85 e 0,38, respectivamente. No citado traballo de Días (2015) con mostras secas e moídas de ensilaxes de planta enteira de millo (n=102) de granxas leiteiras das Açores (Portugal) se obtiveron ecuacións NIRS que permitían explicar entre o 56 e o 25% da varianza do pH e do contido en N amoniacal, presentando unha capacidade preditiva insatisfactoria (RPD = 1,48 e RPD = 1,23, respectivamente). Resultados similares obtiveron Fassio *et al*. (2009) no cal obtiveron ecuacións NIRS para predicir pH e N amoniacal en ensilaxes de grao de millo húmido de granxas do Uruguai cunha capacidade preditiva non satisfactoria, mostrando valores de RPD de 2,03 e 2,15, respectivamente.

No estudo de Sørensen (2004) se confirmou a posibilidade de estimar o valor de pH e de produtos de fermentación de mostras secas de ensilaxes de millo, incluso con maior precisión que cando as medidas NIRS se realizan sobre material seco, debido á maior homoxeneidade da mostra seca e moída e maior repetibilidade das medicións. As ecuacións foron algo menos precisas que as obtidas para ensilaxes de herba, se ben o axuste foi excelente para a predición de ácido láctico ($1 - VR$ = 0,96 e RPD = 4,7) e aceptábel para pH e N-NH_3 ($1 - VR$ = 0,78 e 0,77 e RPD = 2,4 e 2,9, respectivamente), sendo pobre para a estimación do contido en acético ($1 - VR$ = 0,72 e RPD = 1,9), en liña cos resultados obtidos no presente traballo. A imposibilidade de predicir o contido en etanol por NIRS a partir de mostras secas de ensilaxe indicado neste estudo, non foi sen embargo sustentado polos nosos resultados, que confirmaron que NIRS podía proporcionar unha estimación cualitativa do contido en etanol utilizando mostras secas de ensilaxe. A evidencia de que NIRS non mide directamente a presenza de compostos con alta volatilidade durante o secado en estufa, senón que detecta propiedades espectrais da mostra correlacionadas co seu contido (Shenk, 1992), que no estudo de Sørensen (2004) xustifica a predición NIRS do contido en acético, sería tamén de aplicación ao etanol, e explicaría a posibilidade de predicir cualitativamente o contido en etanol en mostras secas de ensilaxes de millo mediante NIRS observada no presente traballo.

Os modelos NIRS para a predición da calidade fermentativa de ensilaxes de millo mostraron maior robustez e fiabilidade que os modelos xerais construídos con toda a colección de mostras de ensilaxes cando se aplicaron a un conxunto de mostras independentes que non foron utilizadas para construír os modelos preditivos. Como no caso das ensilaxes de herba, a mellora na exactitude e precisión das ecuacións requiriría ampliar o conxunto de calibración con novas mostras que recolleran novas fontes de variabilidade existentes na práctica e non incorporadas aínda na colección de calibración.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

Conclusións

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

6. - CONCLUSIÓNS

- No presente traballo se expuxeron as características de composición química e dixestibilidade das forraxes verdes e conservadas máis utilizadas nas explotacións leiteiras galegas, representando unha gran parte da variabilidade encontrada na práctica, tanto a nível local como cando se comparan cos resultados expostos noutras bases de datos españolas e estranxeiras.
- As ecuacións desenvolvidas teñen en conta a alta variabilidade das forraxes, reflectindo as diferenzas agronómicas, botánicas, estacionais e locais. O alto número de mostras utilizadas e a variabilidade de condicións que representan, é a base para a obtención de ecuacións suficientemente robustas para a estimación do valor nutricional das principais forraxes utilizadas nas explotacións de leite de Galiza.
- As ecuacións NIRS construídas por separado para os distintos conxuntos de mostras de forraxes frescas e ensiladas son máis exactas e precisas que as ecuacións universais elaboradas para o total destes dous grupos, en particular na estimación da DMO.
- Non é posíbel xeneralizar as condicións específicas para obter as mellores ecuacións de regresión, xa que varían segundo os parámetros a predicir e as características das análises de referencia. Sen embargo, dentro dos diferentes pretratamentos espectrais utilizados, a corrección da dispersión utilizando SNV+D coa segunda ou primeira derivada proporcionou polo xeral os mellores resultados dos modelos de calibración para a predición dos parámetros de composición química, parámetros fermentativos, dixestibilidade e degradabilidade, sendo variábel segundo os casos o mellor tratamento matemático para optimizar o rendemento dos modelos.
- A exactitude das predicións NIRS, avaliada como $bias$ e SEP, satisface en xeral as expectativas neste campo de investigación para a estimación da composición química e dixestibilidade dos produtos analizados. Os modelos de calibración se comportaron adecuadamente para a predición dos contidos en PB, FND, FAD, CNET, CSA, ALM e DMO en forraxes frescas, fenos e ensilaxes de herba, sendo menos fiábeis as estimación en ensilaxes de millo. O contido en MO foi

peor predito, en xeral, que os valores de fibra, carbohidratos estruturais e proteína en tódalas forraxes agás en sorgo fresco e en ensilaxe de millo.

- É posíbel a predición directa por NIRS da degradabilidade efectiva da MS, PB e FND de ensilaxes de herba, sendo menos precisa esta última, mentres que en ensilaxes de millo só e de utilidade a calibración para estimar o valor da degradabilidade efectiva da MS. Dada a elevada imprecisión da predición do parámetro que define a velocidade de degradación ruminal dos distintos compoñentes das ensilaxes, non se recomenda a súa utilización para a estimación do valor da degradabilidade efectiva.

- O superior erro das ecuacións empíricas para a estimación de DMO e degradabilidade efectiva desaconsellan, en xeral, o seu uso en comparación coas ecuacións NIRS. En caso de seren utilizadas, se debe prestar especial atención ao método de referencia polo cal se realizou a determinación dos preditores, xa que a reproducibilidade de resultados entre laboratorios pode non ser adecuada, causando unha imprecisión adicional nas estimacións.

- As calibracións NIRS para a predición da calidade fermentativa de ensilaxes de herba e de millo foron satisfactorias, sendo máis precisas as elaboradas especificamente para cada tipo de forraxe comparadas coas ecuacións xerais para ambas ensilaxes e as ecuacións para a predición de compostos menos afectados polo proceso de secado das mostras na estufa.

- Os valores determinados con animais mediante ensaios *in situ* non son suficientemente numerosos, tanto en ensilaxes de herba como de millo, polo que a mellora dos modelos de predición para a estimación dos valores de degradabilidade ruminal require da adición de novas mostras ás coleccións existentes para permitir a comprobación do seu comportamento en validación independentes. A fin de incrementar a robustez das ecuacións debe procurarse a estandarización dos procedementos cos realizados por outras institucións e grupos de investigación con vistas a compartir as bases de datos de referencia.

- O mesmo cabe dicir dos valores de dixestibilidade para determinadas forraxes, en particular fenos, cuxa colección debe ser ampliada con novas mostras analizadas por métodos de referencia. O uso de valores de DMO *in vitro*, corrixido por estándares *in vivo*, permite superar este problema.

- O presente traballo produciu unha substancial mellora da calidade da oferta analítica dos diferentes tipos de mostras ao servizo das ganderías galegas por parte do LIGAL por medio dunha técnica rápida, precisa, robusta, sen utilización de reactivos químicos e a un baixo custo.
- Os alentadores resultados obtidos, unido ao feito de que as ecuacións NIRS son unicamente válidas dentro do rango de variación do conxunto de calibración, suxiren a necesidade de incrementar o tamaño das coleccións a fin de obter maior fiabilidade preditiva e robustez das ecuacións obtidas. Para elo, ademais da necesaria expansión das calibracións de mostras avaliadas *in vivo*, *in situ* e *in vitro* á que se aludía nos parágrafos anteriores, debe ser continuada a labor de identificación das mostras anómalas nas análises de rutina no LIGAL, seguido de selección das máis adecuadas para seren sometidas a análise por métodos de referencia e posterior incorporación ás coleccións, no seu caso, procedéndose a actualizar os modelos de calibración polo menos unha vez cada dúas campañas. Isto constitúe un importante paso cara a posta en práctica dun programa máis amplo e mantido no tempo de asesoramento da calidade nutricional das forraxes utilizadas nas explotacións de leite como elemento imprescindíbel para lograr un maior grao de sustentabilidade.
- Alén da utilización das ecuacións NIRS para a prestación de servizos analíticos á explotacións, debe ser remarcada a importancia paralela de dispor de calibracións fiábeis con propósitos de apoio á investigación, así como aos programas de selección en mellora de plantas onde sexa requirido o coñecemento do valor nutricional.

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

Bibliografía

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

7. - BIBLIOGRAFÍA

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.

Abrams, S.M.; Shenk, J.S.; Harpster, H.W. (1988). Potential of near infrared reflectance spectroscopy for analysis of silage composition. *Journal of Dairy Science*, 71, 1955-1959.

Abrams, S.M.; Shenk, J.S.; Westerhaus, M.O.; Barton, F.E. (1987). Determination of forage quality by near infrared reflectance spectroscopy: Efficiency of broad based calibration equations. *Journal of Dairy Science*, 70, 806-803.

Adesogan, A.T.; Owen, E.; Givens, D.I. (1998). Prediction of the *in vivo* digestibility of whole crop wheat from *in vitro* digestibility, chemical composition, *in situ* rumen degradability, *in vitro* gas production and near infrared reflectance spectroscopy. *Animal Feed Science and Technology*, 74, 259-272.

Aerts, J.V.; De Brabander, D.L.; Cottyn, B.G.; Buysse, F.X. (1977). Comparison of laboratory methods for predicting the organic matter digestibility of forages. *Animal Feed Science and Technology,* 2, 337-349.

AFIA (2011). Laboratory Methods Manual. A reference manual of standard methods for the analysis of fodder. Australian Fodder Industry Association Inc. Publication No. 03/001, 103 pp.

AFRC (1990). Agricultural Food Research Council. Nutritive Requirements of Ruminant Animals: Energy. Technical Committee on Responses to Nutrients, Report No. 5. *Nutrition Abstracts and Reviews. Series B, Livestock Feeds and Feeding*, 62, 729-804.

AFRC (1993). Agricultural Food Research Council. Energy and Protein Requirement of ruminants. An advisory manual prepared by AFRC. Technical Committee on Response to Nutrients. CAB International: Wallingford, Reino Unido.

Albanell, E.; Plaixats, J.; Ferret, A.; Bosch, L.; Casanas F. (1995). Evaluation of near-infrared reflectance spectroscopy for predicting stover quality trait in semi-exotic populations of maize. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 69, 269-273.

Albanell, E.; Plaixats, J.; Mas, M.T. (1997). A note on prediction of maize stover quality by near-infrared reflectance spectroscopy (NIRS) technique. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 6, 559-565.

Alderman, G. (1979). Application of practical rationing systems. En: Standardization of analytical methodology for feeds. Pigden *et al.* (Eds.), IDRC, Otawa, Canadá. pp. 29-35.

Alexander, R.H.; McGowan, M. (1966). The routine determination of *in vitro* digestibility of organic matter in forages. *Journal of the British Grassland Society*, 21, 140-147.

Alomar, D.; Fuchslocher, R. (1997). Fundamentos de la espectroscopia de reflectancia en el infrarrojo cercano (NIRS) como método de análisis de forrajes. *Agro Sur,* 26, 88-104.

Alomar, D.; Fuchslocher, R.; Cuevas, J.; Mardones, R.; Cuevas, E. (2009). Prediction of the composition of fresh pastures by Near Infrared Reflectance or Interactance-Reflectance Spectroscopy. *Chilean journal of agricultural research*, 69 (2), 198-206.

Amari, M.; Abe A. (1997). Application of near infrared reflectance spectroscopy to forage analysis and prediction of TDN contents. *Japan Agricultural Research Quarterly*, 31, 55-63.

Andrés, S.; Calleja, A.; López, S.; Mantecón, A.; Giráldez, F. (2005a). Nutritive evaluation of herbage from permanent meadows by near-infrared reflectance spectroscopy: 2. Prediction of crude protein and dry matter degradability. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85, 1572-1579.

Andrés, S.; Giráldez, F.; López, S.; Mantecón, A.; Calleja, A. (2005b). Nutritive evaluation of herbage from permanent meadows by near-infrared reflectance spectroscopy: 1. Prediction of chemical composition and *in vitro* digestibility. *Journal of the Science of Food and Agriculture*; 85, 1564-1571.

Andrieu, J. (1976a). Agronomic factors affecting the growth and composition of the maize plant. *Animal Feed Science and Technology*, 1, 263-271.

Andrieu, J. (1976b). Factors influencing the composition and nutritive value of ensiled whole crop maize. *Animal Feed Science and Technology*, 1, 381-392.

Andrieu, J. (1995). Prévision de la digestibilité et de la valeur énergétique du maïs fourrage à l'état frais. INRA *Productions Animales*, 8 (4), 273-274

Andrieu, J.; Barriére, Y.; Demarquilly, C. (1999). Digestibilité et valeur énergétique des ensilages de maïs: le point sur les méthodes de prévision au laboratoire. INRA *Productions Animales*, 12 (5), 391-396

Andrieu, J.; Demarquilly, C. (1974). Valeur alimentaire du maïs fourrage. II - Influence du stade de végétation, de la variété, du peuplement, de l'enrichissement en épis et de l'addition d'urée sur la digestibilité et l'ingestibilité des ensilages de maïs. *Annales de Zootechnie*, 23, 1-25.

Andrieu, J.; Demarquilly, C.; Dardenne, P.; Barrière ,Y.; Lila, M.; Maupetit, P.; Rivière, F.; Femenias, N. (1993). Composition and nutritive value of whole maize plants fed fresh to sheep. I. Factors of variation. *Annales de Zootechnie*, 42, 221-249.´

Andrieu, J.; Demarquilly, C.; Wegat-Litre, E. (1981). Tables de prévision de la valeur alimentaire des fourrages. En: Prévision de la valeur nutritive des aliments des Ruminants INRA publications, Versailles, Francia.

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.

Andueza, D.; Picard, F.; Jestin, M.; Andrieu, J.; Baumont, R. (2011). NIRS prediction of the feed value of temperate forages: efficacy of four calibration strategies. *Animal*, 5 (7), 1002-1013.

Antoniewicz, A.M.; Kowalczyk, J.; Kanski, J.; Gorska-Matusiak, Z.; Nalepka, M. (1995). Rumen degradability of crude protein of dried grass and lucerne forage measured by in sacco incubation and predicted by near infrared spectroscopy. *Animal Feed Science and Technology,* 54, 203-216.

AOAC (2003). Official Method 2003.06 Crude fat in feeds, cereal grains, and forages. *Journal of AOAC International*, 86, 888-899.

Argamentería, A.; Muñoz, F.; Andueza, D. (1993). Control de resultados analíticos interlaboratorios. En: Nuevas Fuentes de Alimentos para la Producción Animal IV. Gómez-Cabrera e de Pedro-Sanz (Eds.), Junta de Andalucía, Congresos y Jornadas, 30, pp. 227-234.

Arriaga, H. (2010). Cattle nutrition as a strategy to mitigate gaseous nitrogen losses from dairy farming. Tese doutoural. Universitat Autònoma de Barcelona. Servicio Central de Publicaciones del Gobierno Vasco.

Asekova, S. (2016). Determination of forage quality by near-infrared reflectance spectroscopy in soybean. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, 16, 105-110.

Atanassova, S.; Pavlov, D.; Todorov, N. (1994). Estimation of chemical composition, net energy and protein value of lucerne by NIRS and by regression equation based of the days of vegetation or the accumulated temperature. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 3, 325-335

Aufrére, J. (1982). Etude de la prévision de la digestibilité des fourrages par une méthode enzymatique. *Annales de Zootechnie*, 31, 111-130.

Aufrére, J.; Baumont, R.; Delaby, L.; Pacatte, J.R.; Andrieu, J.; Andrieu, J.P.; Dulphy, J.P. (2007). Prévision de la digestibilité des fourrages par la méthode pepsine-cellulase. Le point sur les équations proposées. *INRA Productions Animales*, 20 (2), 129-136

Aufrère, J.; Graviou, D.; Demarquilly, C.; Andrieu, J.; Emile, J.C.; Giovanni, R.; Maupetit, P. (1992). Estimation of organic matter digestibility of whole maize plants by laboratory methods. *Animal Feed Science and Technology*, 36, 187-204.

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.

Aufrère, J.; Michalet-Doreau, B. (1988). Comparison of methods for predicting digestibility of feeds. *Animal Feed Science and Technology*, 20, 203-218.

Aufrère, J.; Michalet-Doreau, B. (1990). Nouvelles méthodes d'estimation de la valeur alimentaire des fourrages. II. Méthodes enzymatiques. *Fourrages*, 122, 203-217.

Baker, C.W.; Givens, D.I.; Deaville, E.R. (1994). Prediction of organic matter digestibility *in vivo* of grass silage by near infrared reflectance spectroscopy: effect of calibration method, residual moisture and particle size. *Animal Feed Science and Technology*, 50 (1-2), 17-26.

Bande-Castro, M.J. (2013). Avaliación das variedades de millo forraxeiro en Galicia. *Afriga*, 103, 62-68.

Barber, G.D.; Givens, D.I.; Kridis, M.S.; Offer, N.W.; Murray, I. (1990). Prediction of the organic matter digestibility of grass silage. *Animal Science Feed and Technology,* 28, 115-128.

Barber, W.P.; Adamson, A.H.; Altman, J.F.B. (1984). New methods of forage evaluation. En: Recent advances in animal nutrition. Haresign e Cole (Eds.), Butterworths, London, Reino Unido, pp. 161-176.

Barnes, R.J.; Dhanoa, M.S.; Lister S.J. (1989). Standard normal variate transformation and Detrending of near infrared diffuse reflectance spectra. *Applied Spectroscopy*, 43, 772-777.

Baron, V.S.; Dick, A.C.; Wolynetz, M.S. (1992). Characterization of barley silage-maturity relationships for central Alberta. *Canadian Journal of Plant Science*, 72, 1009-1020.

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. Dossier: *Ressources alimentaires pour les animaux d'élevage*, 31(3), 237-254.

Baumont, R.; Aufrère J.; Meschy F. (2009). La valeur alimentaire des fourrages: rôle des pratiques de culture, de récolte et de conservation. Journées AFPF- Des fourrages de qualité pour des élevages performants, 47-61.

Beever, D.E.; Mould, F.L. (2000). Forage evaluation for efficient ruminant livestock production. p. 15-42. En: Forage evaluation in ruminant nutrition. Givens *et al*. (Eds.), CABI Publishing, Wallingford, Oxon, Reino Unido.

Ben-Gera, I.; Norris, K.H. (1968). Determination of moisture content in soybeans by direct spectrophotometry. *Agricultural Research*, 18, 125-132.

Berardo, N. (2003). Prediction of the chemical composition of white clover by near-infrared reflectance spectroscopy. *Grass and Forage Science*, 52, 27-32.

Berauer, B. J.; Wilfahrt, P.A.; Reu, B.; Schuchardt, M.A.; Garcia-Franco, N.; Zistl-Schlingmann, M.; Dannenmann, M.; Kiese, R.; Kühnel, A.; Jentsch, A. (2020). Predicting forage quality of species-rich pasture grasslands using vis-NIRS to reveal effects of management intensity and climate change. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 296, 106929.

Bergman, E.L.; Brage, H.; Josefson, M.; Svensson,O.; Sparén, A. (2006). Transfer of NIR calibrations for pharmaceutical formulations between different instruments. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41, 89-98.

Bertrand, D.; E. Dufour (2000). La spectroscopie infrarouge et ses applications analytiques. Lavoisier-Technique et documentation, Paris, Francia.

Bertrand, D.; Lila, M.; Furtoss, V.; Robert, P.; Downey, G. (1987). Application of principal component analysis to the prediction of lucerne forage protein content and *in vitro* dry matter digestibility by NIR spectroscopy. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 41, 299-307.

Biston, R.; Dardenne, P. (1985). Previsión de la qualité des fourrages en vue de leur exploitation rationnelle. *Bulletin des Recherches Agronomiques de Gembloux*, 20, 23-41.

Black, J.R.; Ely, L.O.; McCullough, M.E.; Sudweeks, E.M. (1980). Effects of stage of maturity and silage additives upon the yield of gross and digestible energy in sorghum silage. *Journal of Animal Science*, 50, 617-624.

Blaxter, K.L. (1969). The efficiency of energy transformations in ruminants. En: Energy Metabolism of Farm Animals. Blaxter *et al*. (Eds.), EAAP Publ. No 12, p. 21.

Blosser, T.H.; Reeves, J.B. III; Bond, J. (1988). Factors affecting analysis of the chemical composition of tall fescue with near infrared reflectance spectroscopy. *Journal of Dairy Science*, 71, 398-408.

Borreani, G.; Tabacco, E.; Schmidt, R.J.; Holmes, B.J.; Muck, R.E. (2018). Silage review: Factors affecting dry matter and quality losses in silages. *Journal of Dairy Science*, 101 (5), 3952-3979.

Botana, A. (2019). Estudio de los sistemas de alimentación en explotaciones de vacuno de Galicia: Efecto de la composición de la dieta sobre el perfil de ácidos grasos y antioxidantes liposolubles de la leche. Tesis Doctoral. Escola Politécnica Superior de Lugo. Universidade de Santiago de Compostela. Octubre, 2019, 224 pp.

Botana, A.; Sainz, A.; Pereira-Crespo, S.; Valladares, J.; Veiga, M; Resch, C. Canabal, F.J.; Flores-Calvete, G. (2017). Produtividade e composición química do sorgo e do xirasol cultivados para ensilar en terreos con e sen rega da Galicia interior. *Afriga*, 128, 132-144.

Botana, A.; Sainz-Ramírez, A.; Valladares, J.; Pereira-Crespo, S.; Veiga, M.; Resch, C.; Flores-Calvete, G. (2016a). Productividad y composición química del sorgo para ensilar cultivado con y sin riego en Galicia. En: Renaturalización vs. Ruralización (Rewilding vs. Re-farming). Bartolomé *et al*. (Eds). Sociedad Española para el Estudio de los Pastos, Barcelona, España, pp. 90-95.

Botana, A.; Valladares, J.; Pereira-Crespo, S.; Díaz, N.; Resch, C.; Fernández-Lorenzo, B.; Dagnac, T.; Veiga, M.; Flores-Calvete, G. (2016b). Las mezclas de leguminosas anuales pueden mejorar la productividad de la rotación raigrás italiano-maíz forrajero. 55ª Reunión Científica de la Sociedad Española para el Estudio de los Pastos. En: Báez

et al. (Eds.), Innovación Sostenible en pastos: Hacia una agricultura de respuesta al cambio climático, pp. 81-87.

Botana-Fernández, A.; Pereira-Crespo, S.; Lorenzana-Fernández, R.; Veiga-López, M.; Resch-Zafra, C.; González-González, L.; Castro-Insua, J.; Valladares-Alonso, J.; Dagnac, T.; Flores-Calvete, G. (2018). Estrutura e sistemas de alimentación en explotacións leiteiras de Galicia. Centro de Investigacións Agrarias de Mabegondo-Laboratorio Interprofesional Galego de Análise do Leite. 80 pp.

Bougouin, A.; A. Leytem; J. Dijkstra; R.S. Dungan; E. Kebreab. (2016). Nutritional and environmental effects on ammonia emissions from dairy cattle housing: A meta-analysis. *Journal of Environmental Quality*, 45, 1123-1132.

Brichette-Mieg, J.; Castro, P.; López, A.; Moreno-González, J. (2000). Actualización de la calibración NIRS para estimar la digestibilidad de la materia orgánica en 28 ecotipos de maíz del Norte de España. En: Actas XL Reunión Científica de la Sociedad Española para el Estudio de los Pastos e XXI Reunião de Primavera da Sociedade Portuguesa de Pastagens e Forragens. Consellería de Agricultura, Ganadería e Política Agroalimentaria, Xunta de Galicia (Ed.), Santiago de Compostela, España, pp. 391-397.

Broderick, G.A. (2003). Effects of varying dietary protein and energy levels on the production of lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science,* 86, 1370-1381.

Brouk, M.J.; Bean, B. (2011). Sorghum in dairy production. Feeding guide. United Sorghum Checkoff Program, Lubbock, Texas, EEUU. Dispoñible en: https://www.sorghumcheckoff.com/assets/media/feedingguides/dairyhandbookweb.pdf.

Brown, W.F.; Moore, J.E.; Kunkle, W.E.; Chambliss, C.G.; Portier, K.M. (1990). Forage testing using near infrared reflectance spectroscopy. *Journal of Animal Science*, 68, 1416-1427.

Bruno-Soares, A.M; Murray, I.; Rhona, M.; Paterson, J.; Abreu, M.F. (1998). Use of near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) for the prediction of the chemical composition and nutritional attributes of green crop cereals. *Animal Feed Science and Technology*, 75, 15-25.

Buckmaster, D.R.; Muller, L.D. (1994). Uncertainty in nutritive measures of mixed livestock rations. *Journal Dairy Science*, 77, 3716-3724.

Budiongo, K.J.; Harbers, L.H.; Seabourn, B.W.; Bolsen, K.K.; Brent, B.E. (1996). Using near-infrared reflectance spectroscopy for rapid nutrient evaluation of sorghum silage. *Kansas Agricultural Experiment Station Research Reports*: Volume 0: Issue 1.Dispoñible en: https://doi.org/10.4148/2378-5977.2009.

Bughara, S.S.; Sleper, D.A.; Beuselinck, P.R. (1992). Comparison of cellulase solutions for use in digesting forage samples. *Crop Science*, 84, 631-636.

Burdick, D.; Barton II F.E.; Nelson, B.D. (1981). Prediction of bermudagrass composition and digestibility with a near-infrared multiple filter spectrophotometer. *Agronomy Journal,*73, 399-403.

Burns, D.A.; Ciurczak, E.W. (1992) Handbook of near infrared analysis. Marcel Dekker, New York, 681 pp.

Campo Ramírez, L.; Castro García, P.; Moreno-González, J. (2007). Calibración NIRS para estimar la digestibilidad de la materia orgánica de la planta entera de maíz en híbridos seleccionados para forraje. En: Los sistemas forrajeros: entre la producción y el paisaje, Sociedad Española para el Estudio de los Pastos (Ed.), Toledo, España. pp. 461-467.

Campo, L.; Castro, P.; Moreno-González, J. (2010). Desarrollo de ecuaciones de calibración mediante reflectancia en el infrarrojo cercano (NIRS) para la evaluación de biomasa en planta entera de maíz. Plan de Transferencia Tecnológica 2010. Acción 10/38. Consellería do Medio Rural. Xunta de Galicia. Dispoñible en: http://ciam.gal/sp/transferencia/ttpdf/10-38.pdf

Campo, L.; Monteagudo, A.B.; Salleres, B.; Castro, P.; Moreno-González, J. (2013). NIRS determination of non-structural carbohydrates, water-soluble carbohydrates and other nutritive quality traits in whole plant maize with wide range variability. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 11 (2), 463-471.

Campo, L.; Moreno-González, J. (2014). Ecuaciones NIRS desarrolladas para la estimación del contenido en proteína y almidón en grano de maíz. En: Pastos y PAC 2014-2020. Busqué *et al*. (Eds.), Potes, España, pp. 365-372.

Campo-Ramírez, L.; Moreno-González, J.; Castro, P. (1999). Determinación del valor nutritivo del maíz forrajero a distintas densidades de plantas mediante el NIRS. En: Libro de actas de la XXXIV Reunión Científica de la SEEP, Sociedad Española para el Estudio de los Pastos (Ed.), Almería, España, pp. 179-183.

Carro, M.D.; López, S.; González, J.S.; Ovejero, F.J. (1994). Comparison of laboratory methods for predicting digestibility of hay in sheep. *Small Ruminant Research*, 14, 9-17.

Castillo, A.R.; Kebreab, E.; Beever, D.E.; Barbi, J.H.; Sutton, J.D.; Kirby, H.C.; France, J. (2001). The effect of protein supplementation on nitrogen utilization in lactating dairy cows fed grass silage diets. *Journal of animal science*, 79, 247-253.

Castro, P. (1996). Efecto de tres temperaturas de secado sobre la calidad de forrajes y heces. En: Actas de la XXXVI Reunión Científica de la SEEP, Sociedad Española para el Estudio de los Pastos (Ed.), La Rioja, España, pp. 365-368.

Castro, P. (1998). Use of Near Infrared Reflectance Spectroscopy (NIRS) for forage Analysis. En: International FAO Meeting. Seminater Notes. 13th-16t^{h} october 1998. A Coruña (Galicia), España, pp. 225-228.

Castro, P. (2000). Determinación de carbohidratos no estructurales en forrajes. En: III Reunión Ibérica de Pastos y Forrajes. Consellería de Agricultura, Gandería e Política Agroalimentaria, Xunta de Galicia (Ed.), Santiago de Compostela, España, pp. 447-453.

Castro, P. (2002). Use of Near-Infrared Reflectance Spectroscopy (NIRS) for forage analysis. En: Lowland and Grasslands of Europe: Utilization and Developement G.

Fisher e B. Frankow-Lindberg (Eds). FAO/CIHEAM. Interregional and Cooperative Research and Development Network on Pastures and Fodder Crop Production. Lowland Grasslands Subnetwork, Roma, Italia.

Castro, P.; Fernández-Lorenzo, B.; Valladares, J. (2005) Análisis de pastos mediante NIRS. XLV Reunión Científica de la Sociedad Española para el Estudio de los Pastos. En: Producciones Agroganaderas: Gestión eficiente y conservación del medio natural. Osoro *et al*. (Eds.), AsturGraf, S.L., Gijón, España, pp.73-80.

Castro, P.; Flores, G.; González-Arráez, A.; Castro, J.; Díaz-Villamil, L. (2003) Nutritive quality of maize silage by NIRS. En: Proceedings 11th International Conference on Near Infrared Spectroscopy. Stretching the NIR Spectrum to the Limit. Universidad de Córdoba (Ed.), Córdoba, España. pp. 190-191.

Castro, P.; Flores, G.; González-Arráez, A.; Castro, J.; Fernández-Lorenzo, B. (2005) Nutritive quality of silages by conventional laboratory methods and Near Infrared Reflectance Spectroscopy. En: Proceedings XXth Internacional Grassland Congress. O'Mara *et al.* (Eds.), Wageningen Academic Publishers, The Netherlands, pp. 261.

Castro, P.; González-Quintela, A.; Prada-Rodríguez, D. (1990). Determinación simultánea de nitrógeno y fósforo en muestras de pradera. En: Actas de la XXX Reunión Científica de la SEEP. Sociedad Española para el Estudio de los Pastos (Ed.), San Sebastián, España. pp. 200-207.

Cebrián, M. (1981-1987). Estudio del valor nutritivo de pastos y forrajes para diferentes sistemas de producción. Memorias do CRIDA 01 (1981, 1982 e 1983) e do Centro de Investigacións Agrarias de Mabegondo (1984-1985).

Cherney, D.J.R. (2000). Characterization of forages by chemical analysis. En: Forage evaluation in ruminant nutrition. Givens *et al.* (Eds.), CAB International, Wallingford, Reino Unido, pp. 281-300.

Cherney, J.H.; Marten, G.C. (1982). Small grain forage potential: I. Biological and chemical determinant of quality and yield. *Crop Science*, 22, 227-231.

Clancy, M.J.; Wilson, R.K. (1966). Development and application of a new chemical method for predicting the digestibility and intake of herbage samples. En: Proceedings of the 10th International Grasslands Congress. Finish Grassland Association (Ed.), Helsinki, Finlandia, pp. 445-452.

Clarke, T.; Flinn, P.C.; McGowan, A.A. (1982). Low-cost pepsin cellulase assays for prediction of digestibility of herbage. *Grass and Forage Science*, 37, 147-150.

Collar, C.; Aksland, G. (2001). Harvest stage effects on yield and quality of winter forage. En: Proceedings of the 31th California Alfalfa and Forage Symposium. California Department of Agronomy and Range Science Extension University of Californi (Ed.), Modesto, California, EEUU. pp. 133-142.

Colombini, S.; Confalonieri, M.; Borreani, G.; Tabacco E.; Peiretti, P.G.; Odoardi, M. (2005). Prediction of the chemical composition and nutritive value of lucerne

(*Medicago sativa* L.) by Near Infrared Spectroscopy. *Italian Journal of Animal Science*, 4 (2), 141-143.

Corson, D.C.; Waghorn, G.C.; Ulyatt, M.J.; Lee, J. (1999). NIRS: Forage analysis and livestock feeding. *Proceedings of the New Zealand Grassland Association*, 61, 127-132.

Cozzolino, D.; Cynkar, W.U.; Shah, N.; Smith, P. (2011b). Multivariate data analysis applied to spectroscopy: Potential application to juice and fruit quality. *Food Research International*, 44, 1888-1896.

Cozzolino, D.; Cynkar, W.U.; Shah, N.; Smith, P.A. (2011a). Technical solutions for analysis of grape juice, must, and wine: The role of Infrared Spectroscopy and chemometrics. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 401 (5), 1475-1484.

Cozzolino, D.; Fassio, A.; Fernandez, E. (2003). Uso de la espectroscopía de reflectancia en el infrarrojo cercano para el análisis de calidad de ensilaje de maíz. *Agricultura técnica*, 63 (4), 387-393.

Cozzolino, D.; Fassio, A.; Gimenez, A. (2001). The use of near-infrared reflectance spectroscopy (NIRS) to predict the composition of whole maize plants. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81, 142-146.

Cozzolino, D.; Fernández, E.G.; Restaino, E.A.; 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.

Dale, L.M.; Thewis, A.; Rotar, I.; Boudry, C.; Pacuar, F.; Lecler B.; Agneessens, R.; Dardenne, P., Baeten, V. (2013). Fertilization effects on the chemical composition and *in vitro* organic matter digestibility of semi-natural meadows as predicted by NIR Spectrometry. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 41 (1), 58-64.

Danley, M.M.; Vetter, R.L. (1973). Changes in carbohydrate and nitrogen fractions and digestibility of forages: Maturity and ensiling. *Journal of Animal Science*, 37, 994-999.

Dardenne, P. (2010). Some considerations about NIR spectroscopy: Closing speech at NIR-2009. NIR News 2010, 21, 8-14.

Dardenne, P.; Andrieu, J.; Barriere, Y.; Biston, R.; Demarquilly, C.; Femenias, N.; Lila, M.; Maupetit, P.; Riviere, F.; Ronsin, T. (1993). Composition and nutritive value of whole maize plants fed fresh to sheep. II. Prediction of the *in vivo* organic matter digestibility. *Annales de Zootechnie*, 42, 251-270.

Dardenne, P.; Biston, R.; Sinnaeve, G. (1992). Calibration transferability across NIRS instruments. En: Near infra-red spectroscopy. Bridging the gap between data analysis and NIRS applications. Hildrum *et al*. (Eds.), Ellis Horwood, Chichester, Reino Unido. pp. 1-10.

De Boever, J.L.; Antoniewicz, A.; Boucqué, Ch.V. (1998). Prediction of *in situ* rumen protein degradability of grass and lucerne by chemical composition or by NIRS. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 7 (4), 437- 451.

De Boever, J.L.; Cottyn, B.G.; Andries, J.I.; Buysse, F.X.; Vanacker, J.M. (1988). The use of a cellulase technique to predict digestibility, metabolizable and net energy of forages. *Animal Feed Science and Technology,* 19, 247-260.

De Boever, J.L.; Cottyn, B.G.; Buysse, F.X.; Wainman, F.W.; Vanacker, J.M. (1986). The use of an enzymatic technique to predict digestibility, metabolisable and net energy of compound feedstuffs for ruminants. *Animal Feed Science and Technology,* 14, 203-214.

De Boever, J.L.; Cottyn, B.G.; De Brabander, D.L.; Vanacker, J.M.; Boucqué, Ch.V. (1996). Prediction of the feeding value of grass silages by chemical parameters, *in vitro* digestibility and near infrared reflectance spectroscopy. *Animal Feed Science and Technology*, 60, 103-115.

De Boever, J.L.; Cottyn, B.G.; De Brabander, D.L.; Vanacker, J.M.; Boucqué, Ch.V. (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.

De Boever, J.L.; Cottyn, B.G.; De Brabander, D.L.; Vanacker, J.M.; Boucque, C.V.; (1997). Prediction of the feeding value of maize silages by chemical parameters, *in vitro* digestibility and NIRS. *Animal Feed Science and Technology*, 66, 211-222.

De Boever, J.L.; Cottyn, B.G.; Vanacker, J.M.; Boucqué, Ch.V. (1995). The use of NIRS to predict the chemical composition and the energy value of compound feeds for cattle. *Animal Feed Science and Technology*, 51, 243-253.

De Boever, J.L.; Van Waes, J.; Cottyn, B.G.; Boucque, C.V. (1994). The prediction of forage maize digestibility by near infrared reflection spectroscopy. *Netherlands Journal of Agricultural Science*, 42 (2), 105-113.

De Boever, J.L.; Vanacker, J.; Fiems, L.; Brabander, D. (2004). Rumen degradation characteristics and protein value of grassland products and their prediction by laboratory measurements and NIRS. *Animal Feed Science and Technology*, 116, 53-66.

De Boever, J.L.; Vanacker, J.M.; De Brabander, D.L. (2002). Rumen degradation characteristics of nutrients in maize silages and evaluation of laboratory measurements and NIRS as predictors. *Animal Feed Science and Technology*, 101, 73-86.

De la Roza, B., Martínez, A., Modroño, S., Flores, G., Argamentería, A. (1999). A comparison of NIR spectroscopy with neutral detergent cellulase technique to predict the *in vivo* digestibility of grass silages. En: Near Infrared Spectroscopy: Proceedings of the 9th International Conference. Davies e Giangiacomo (Eds.), NIR Publications, Chichester, Reino Unido, pp. 661-665.

De la Roza, B.; Martínez, A.; Fernández, O.; Santos, B.; Modroño, S. (1995). Análisis del maíz forrajero por NIRS. Variaciones en la predicción según tratamiento matemático de los datos espectrales. *Pastos*, XXV (1), 99-113.

De la Roza, B.; Martínez, A.; Santos, B.; González, J.; Gómez, G. (1998). The estimation of crude protein and dry matter degradability of maize and grass silages by

near infrared reflectance spectroscopy. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, 6, 145-151.

De la Roza, B.; Modroño, S.; Vicente, F.; Martínez, A.; Soldado, A. (2015). Suitability of faecal near-infrared reflectance spectroscopy (NIRS) predictions for estimating gross calorific value. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 13 (1), e02-003, 7 pages. http://dx.doi.org/10.5424/sjar/2015131-6959.

Deaville, E.R.; Givens, D.I. (1996). Prediction of the non-fermentable energy fraction of grass silage using near infrared reflectance spectroscopy. *Animal Science*, 60, 681 (Abstract).

Deaville, E.R.; Humphries, D.J.; Givens, D.I. (2009). Whole crop cereals 2. Prediction of apparent digestibility and energy values from *in vitro* digestion techniques and near infrared reflectance spectroscopy and chemical composition by near infrared reflectance spectroscopy. *Animal Feed Science and Technology*, 149, 114-124.

Decruyenaere, V.; Lecomte, P.H.; Demarquilly, C.; Aufrère, J.; Dardenne, P.; Stilmant, D.; Buldgen, A. (2009). Evaluation of green forage intake and digestibility in ruminants using near infrared reflectance spectroscopy (NIRS): Developing a global calibration. *Animal Feed Science and Technology*, 148, 138-156.

Decruyenaere, V.; Planchon, V,; Dardenne, P.; Stilmant, D. (2015). Prediction error and repeatability of near infrared reflectance spectroscopy applied to faeces samples in order to predict voluntary intake and digestibility of forages by ruminants. *Animal Feed Science and Technology*, 205. 10.1016/j.anifeedsci.2015.04.011.

Deinum, B.; Steg, A.; Hof, G. (1984). Measurement and prediction of digestibility of forage maize in the Netherlands. *Animal Feed Science and Technology*, 10, 301-313.

Deinum, B.; Van Es, A.J.; P.J. Van Soest. (1968). Climate, nitrogen and grass. II. The influence of light intensity, temperature and nitrogen on *in vivo* digestibility of grass and the prediction of these effects from chemical procedures. *Netherlands Journal of Agricultural Science*, 16, 217-223.

Demarquilly C., Andrieu J. (1972). Composition chimique, digestibilite et ingestibilite de la plante de tournesol sur pied et apres ensilage. *Annales de zootechnie*, 21, 147-152.

Demarquilly, C. (1994). Facteurs de variation de la valeur nutritive du maïs ensilage. INRA *Productions animales*, 7(3), 177-189.

Demarquilly, C.; Andrieu, J. (1992). Composition chimique, digestibilité et ingestibilité des fourrages européens exploités en vert. *INRAE Productions Animales*, 5(3), 213-221.

Demarquilly, C.; Boissau, J.-M.; Bousquet, H.; Cuylle, G.; Jailler, M; Jamot, J.; l'Hotelier, L. (1973). Composition chimique, caractéristiques fermentaires, digestibilité et quantité ingérée des ensilages: modification par rapport au fourrage vert initial. *Annales de zootechnie,* INRA/EDP Sciences, 22 (1), 1-35.

Demarquilly, C.; Chenost, M.; Sauvant, D.(1980). Simple methods to predict feeding value: applied aspects. *Annales de zootechnie*, 29, 351-366.

DePeters, E.J.; Medrano, J.F.; Bath, D.L. (1989). A nutritional evaluation of mixed winter cereals with vetch utilized as silage or hay. *Journal of Dairy Science*, 72 (12), 3247-3254.

Dias, C.R.M. (2015). Caracterização de forragens da ilha Terceira através de espectroscopia NIR. 54 p. Dissertação de Mestrado em Engenharia Zootécnica. Angra do Heroísmo: Universidade dos Açores, Portugal.

Dickerson, J.T. (1986). Yield, composition and nutritive value of forage sorghum silages: hybrid and stage of maturity effects. Master of Science Thesis. Kansas State University, Manhattan, Kansas, EEUU.

Dijkstra, J.; Forbes, J.M.; France, J. (2005). Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism. CAB books, CABI Publishing Series, CAB International, Wallingford, Reino Unido.

Dijkstra, J.; Oenema, O.; van Groenigen, J.W.; Spek, J.W.; van Vuuren, A.M.; Bannink, A. (2013). Diet effects on urine composition of cattle and N_2O emissions. *Animal*, 7, 292-300.

Donker, J.D.; Naik, D.G. (1979). Predicting total digestible nutrients and estimated net energy of dairy cows rations from chemical components. *Journal of Dairy Science*, 62, 424-432.

Doreau, M.; Grimaud, P.; Michalet-Doreau, B. (2000). La sous-alimentation chez les ruminants: ses effets sur la digestion. INRA *Productions animales,*13, 247-255.

Dryden, G. (2003a). Near Infrared Reflectance Spectroscopy: Applications in deer nutrition. Publication No. W03/007. Project No. UQ-109A. Rural Industries Research and Development Corporation. Kingston-Australia. 46 pp.

Dryden, G.McL. (2003b). Near Infrared reflectance Spectroscopy; applications in Deer Nutrition. Tesis Doctoral. School of Animal Studies, The University of Queensland, Gatton Q4343, Australia.

Dubois, P.C.; Garcia, G.; Bolsen, K.K.; Harbers, L.H. (1989). Near-infrared reflectance spectroscopy calibrations for sorghum silage. *Kansas Agricultural Experiment Station Research Reports*, 0 (1), 90-93.

Durmic, Z.; Hutton, P.; Revell, D.K.; Emms, J.; Hughes, S.; Vercoe, P.E. (2010). *In vitro* fermentative traits of Australia woody perennial plant species that may be considered as potential sources of feed for grazing ruminants. *Animal Feed Science and Technology,* 160, 98-109.

Eckman, D.D.; Shenk, J.S.; Wangsness, P.J.; Westerhaus, M.O. (1983). Prediction of sheep responses by near infrared reflectance spectroscopy. *Journal of Dairy Science,* 66, 1983-1987.

Erdoğan, S.; Demirel, M. (2016). Conservation characteristics and nutritive value of sunflower silages as affected by the maturity stages and fibrolytic enzymes. *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology*, 4 (6), 464-469.

Eurostat (2019) http://ec.europa.eu/eurostat/statisticsexplained/index.php/Milk_and_milk_product_statistics

Fassio, A.; Fernández, E.G.; Restaino, E.A.; La Manna, A.; Cozzolino, D. (2009). Predicting the nutritive value of high moisture grain corn by near infrared reflectance spectroscopy. *Computers and Electronics in Agriculture*, 67, 59-63.

Fassio, A.; Gimenez, A.; Fernández, E; Martins, D.; Cozzolino, D. (2007). Prediction of chemical composition in sunflower whole plant and silage (*Helianthus annus* L.) by near infrared reflectance spectroscopy. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, 15, 201-207.

Fearn, T. (2002). Assessing calibrations: SEP, RPD, RER and R^2. *NIR News*, 13, 12-14.

Fearn, T. (2014). The overuse of R^2. *NIR News*, 25, 32.

Fearon, A.L.; Felix, A.; Sapra, V.T. (1990). Chemical composition and *in vitro* dry matter and organic matter digestibility of triticale forage. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 164, 262-270.

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.

FEGA (2020). Declaraciones obligatorias del sector vacuno de leche. Xullo 2020. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Secretaría General Técnica. https://www.fega.es/es/circulares-declaraciones-leche-vacuno

Fernández, V.; Garrido A. (2000). Interactance-Reflectance versus Reflectance NIRS analysis of grains and ground animal feeds. En: Near Infrared Spectroscopy: Proceedings of the 9th International Conference on Near-Infrared Spectroscopy. NIR Publications, Chichester, Reino Unido. pp. 655-659.

Fernández-Lorenzo, B.; Barreal, M.L.; Flores, G.; González-Arráez, A.; Valladares, J.; Castro, P.; Pereira, S. (2007a). Valor nutritivo de ensilados y calidad higiénica de ensilados, piensos y leche en explotaciones de vacuno de Galicia. *Pastos*, XXXVII (2), 241-251.

Fernández-Lorenzo, B.; Flores, G.; González-Arráez, A.; Valladares, J.; Castro, P. (2007). Comparación de las rotaciones forrajeras guisante-triticale/maíz y raigrás italiano/maíz. Los sistemas forrajeros: entre la producción y el paisaje. En: Los sistemas forrajeros: Entre la producción y el paisaje, Actas. XLVI Reunión Científica de la SEEP, NEIKER-Sociedad Española para el Estudio de los Pastos (Eds.), Vitoria, España, pp. 223-230.

Fernández-Lorenzo; B.; Barreal, M.L.; Flores, G.; González-Arráez, A.; Valladares, J.; Pereira, S.; Cardelle, M. (2007b). Estabilidad aeróbica y calidad fermentativa e higiénica de ensilados de maíz. Efecto de la fecha de corte y del uso de inoculantes. *Pastos*, XXXVII (1), 71-80.

Fishert L.J., Fowler D.B. (1975). Predicted forage value of whole plant cereals. *Canadian Journal of Plant Science*, 55, 975-986.

Flinn, P.C.; Heazlewood P.G. (2000a). A uniform objective system for quality description of Australian fodder products. No. 00/134. Project No. DAV-104. Canberra: Rural Industries Research and Development Corporation.

Flinn, P.C.; Heazlewood, P.G.; Dalton, S.L. (2000b). Recent developments in improving the prediction of digestibility of feed grains. En: Near Infrared Spectroscopy: Proceedings of the 9*th* International Conference on Near-Infrared Spectroscopy. Davies e Giangiacomo (Eds.). NIR Publications, Chichester, Reino Unido, pp. 745-748.

Flores Calvete, G. (2004). Factores que afectan a la calidad del ensilaje de hierba y a la planta de maíz forrajero en Galicia y evaluación de métodos de laboratorio para la predicción de la digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica de estos forrajes ensilados. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Madrid.

Flores, G. *et al*., (2019). Resultados finais do Proxecto FEADER2017-022B Valorización do leite de vaca en Galicia con sistemas de baixo carbono". Centro de Investigacións Agrarias de Mabegondo. Outubro 2019. 30 pp.

Flores, G.; Piñeiro, J.; Díaz, N.; Valladares, J.; Fernández-Lorenzo, B.; González-Arráez, A.; Bande-Castro, M.J.; Pereira-Crespo, S.; Resch, C. (2011a). Nuevas leguminosas anuales como cultivo de invierno en rotaciones forrajeras intensivas de Galicia. En: 50ª Reunión Científica de la Sociedad Española para el Estudio de los Pastos. Pastos, paisajes culturales entre tradición y nuevos paradigmas del siglo XXI, Toledo, España, pp. 319-324

Flores, G.; Castro, J.; González-Arráez, A.; Sánchez, L.; Amil, G.; Cardelle, M. (2001). Efecto del método de preparación de las muestras de hierba verde y ensilada sobre las características de degradabilidad ruminal determinada por el método de las bolsas de nylon. En: Biodiversidad en pastos. Consellería de Agricultura, Pesca y Alimentación Generalitat Valenciana (Ed.), Alicante, España. pp. 439-450.

Flores, G.; Díaz, N.; Díaz, D.; Valladares, J.; Pereira-Crespo, S.; Fernández-Lorenzo, B.; Resch, C.; Rodríguez-Diz, X.; Piñeiro, J. (2013). Evaluación de cultivares de raigrás italiano e híbrido como cultivo de invierno para ensilar en primavera. *Pastos*, 43 (1), 20-34.

Flores, G.; González-Arráez, A.; Piñeiro, J.; Castro, P.; Díaz-Villamil, L.; Valladares, J. (2003). Composición química y digestibilidad *in vitro* del guisante forrajero (*Pisum sativum* L.) y triticale (*Triticosecale* Wittm.) como cultivos invernales en seis fechas de corte en primavera. En: Pastos, desarrollo y conservación. Actas de la XLIII Reunión Científica de la Sociedad Española para el Estudio de los Pastos. Robles Cruz *et al*. (Eds.), Granada, España, pp. 261-267.

Flores, G.; López-Garrido, C.; Beceiro, U.; Ribas, A. (2003). Concentraçom parcelária e estrutura das exploraçons leiteiras de Galiza. *Cadernos da Area de Ciencias Agrarias, Seminario de Estudos Galegos*, 16, 83-118.

Flores, G.; Pereira, S.; Díaz, N.; Díaz, D.; Román, A.; Botana, J.; Valladares, J.; González, L.; Veiga, M.; Resch C. (2019). Avaliación produtiva e nutricional de variedades comerciais de especies pratenses en sementeiras de primavera na zona atlántica de Galicia. *Vaca Pinta*, 12, 122-143.

Flores, G.; Resch, C.; Fernández-Lorenzo, B.; González-Arráez, A.; Valladares, J.; Dagnac, T.; Latorre, A.; Agruña, M.J.; Pereira, S.; Díaz, N.; Giménez, R.; Rodríguez-Diz, X. (2012). As pradeiras de trevo violeta permiten estender a estación de pastoreo e producir leite rica en ácidos graxos poliinsaturados durante o verán. *Afriga*, 100, 98-112

Flores-Calvete, G.; Botana-Fernández, A. Pereira-Crespo, S.; Valladares-Alonso, J.; Pacio-Rivas, B.; Aguión-Sandá, A.; Resch-Zafra, C. (2016). Efecto del momento de corte sobre el rendimiento y valor nutricional de dos tipos de girasol (una variedad forrajera y otra de aceite) cultivados para ensilar a finales de verano en Galicia. *Afriga*, 121, 184-200.

Flores-Calvete, G.; Díaz, N.; Valladares, J.; Fernández-Lorenzo, B.; González-Arráez, A.; Bande-Castro, M.J., Pereira-Crespo, S.; Resch, C.; Rodríguez-Diz, X.; Piñeiro, J. (2011b). Leguminosas anuais en asociación con raigrás italiano como cultivo invernal nas rotacións forraxeiras intensivas. *Afriga*, 94, 86-98.

Flores-Calvete, G.; González-Arráez, A.; Castro-González, J.; Castro-García, P.; Cardelle-Campos, M.; Fernández-Lorenzo, B.; Valladares-Alonso, J. (2005). Evaluación de métodos de laboratorio para la predicción de la digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica de ensilajes de hierba y planta entera de maíz. *Pastos*, XXXIII (1), 5-99.

Flores-Calvete, G.; Martínez-Fernández, A.; Doltra, J.; García, A.; Eguinoa, 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. Dispoñible en: http://ciam.gal/pdf/informeinia.pdf

Flores-Calvete, G.; Valladares, J.; Pereira-Crespo, S.; Díaz, N.; Resch, C.; Fernández-Lorenzo, B.; Dagnac, T.; Crecente-Campo, S.; Salvatierra-Rico, J.A. (2014). Rate of progress to flowering in annual species of genus *Trifolium* grown for silage in Galicia (NW of Spain) as affectd by sowing date. *Options Méditerranéennes A,* 109 Forage resources and ecosystem services provided by Mountain and Mediterranean grasslands and rangelands, pp. 149-153.

Flores-Rojas, K.U. (2009). Determinación no destructiva de parámetros de calidad de frutas y hortalizas mediante espectroscopía de reflectancia en el infrarrojo cercano. Tesis Doctoral. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos y de Montes. Departamento de bromatología y tecnología de los alimentos. Universidad de Córdoba, España. 183 pp.

Font, R.; del Río-Celestino, M.; de Haro-Bailón, A. (2006). The use of near-infrared spectroscopy (NIRS) in the study of seed quality components in plant breeding programs. *Industrial Crops and Products*, 24 (3), 307-313.

Foskolos, A.; Calsamiglia, S.; Chrenková, M.; Weisbjerg, M.; Albanell, E. (2015). Prediction of rumen degradability parameters of a wide range of forages and non-forages by NIRS. *Animal*, 9 (7), 1163-1171.

Frame, J.; Baker, R.D.; Henderson, A.R. (1995). Advances in grassland technology over the past fifty years. *Pastos*, XXV (2), 155-192.

Frank, B; Swensson, C. (2002). Relationship between content of crude protein in rations for dairy cows and milk yield, concentration of urea in milk and ammonia emissions. *Journal of Dairy Science*, 85, 1829-38.

Galyean, M.L. (2010). Laboratory Procedures in Animal Nutrition Research. Department of Animal and Food Sciences. Texas Tech University, Lubbock, EEUU. 192 pp. Dispoñible en: https://www.depts.ttu.edu/afs/home/mgalyean/lab_man.pdf

García-Ciudad, A.; Garcia-Criado, B.; Pérez-Corona, M.E.; Vázquez de Aldana, B.R.; Ruano-Ramos, A.N. (1993). Application of near-infrared reflectance spectroscopy to chemical analysis of heterogeneous and botanically complex grassland samples. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 63, 419-426.

Garrido, A.; Gómez, A.; Guerrero, J.E.; Fernández V. (1996). NIRS: una tecnología de apoyo para un servicio integral en alimentación animal. En: Avances en Alimentación y Nutrición Animal. Rebollar *et al.* (Eds), Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal (FEDNA), Madrid, España, pp. 275-300.

Garrido-Varo, A.; Pérez-Marín, M.D.; Guerrero-Ginel J.E.; Gómez-Cabrera A. (2003). Avances en la utilización de la tecnología NIRS. Aplicaciones en producción animal. En: Avances en Alimentación y Nutrición Animal. Rebollar *et al.* (Eds). Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal (FEDNA), Madrid, España, pp. 3-27.

Genizi, A.; Goldman, A.; Yulzari, A.; Seligman, N.G. (1990). Evaluation of methods for calibration in vitro digestibility estimates of ruminant feeds. *Animal Feed Science and Technology*, 29, 265-278.

Gierus, M.; Eickler, B.; Resch, R.; Loges, R.; Taube, F.; Poetsch, E.M. (2016). Using *in vitro* methods to estimate metabolizable energy content of five forage legumes harvested under different defoliation systems. *Journal of Land Management, Food and Environment*, 67 (3), 121-131.

Giger, S.; Sauvant, D.; Hervieu, J.; Dorleans, M. (1986). Étude de la prévision de la digestibilité des rations mixtes distribuées à des chèvres laitières par ses caractéristiques analytiques. *Annales de zootechnie*, 35 (2), 137-160.

Givens, D. I.; Cottyn B. G.; Dewey P.J.S.; Steg, A. (1995). A comparison of the neutral detergent-cellulase method with other laboratory methods for predicting the digestibility *in vivo* of maize silages from three European countries. *Animal Feed Science and Technology,* 54, 55-64.

Givens, D.I.; Baker, C.W.; Moss, A.R.; Adamson, A.H. (1991). A comparison of near-infrared reflectance spectroscopy with three *in vitro* techniques to predict the

digestibility *in vivo* of untreated and ammonia-treated cereal straws. *Animal Feed Science and Technology*, 35, 83-94.

Givens, D.I.; Cottyn, B.G.; Dewey, P.J.S.; Steg, A. (1995). A comparison of the neutral detergent-cellulase method with other laboratory methods for predicting the digestibility *in vivo* of maize silages from three European countries. *Animal Science and Technology*, 54 (1-4), 55-64.

Givens, D.I.; De Boever, J.L.; Deaville, E.R. (1997). The principles, practices and some future applications of near infrared spectroscopy for predicting the nutritive value of foods for animals and humans. *Nutrition Research Reviews*, 10 (1), 83-114.

Givens, D.I.; Deaville, E.R. (1999). The current and future role of near infrared reflectance spectroscopy in animal nutrition: a review. *Australian Journal of Agricultural Research,* 50, 1131-1145.

Givens, D.I.; Everington, J.M.; Adamson, A.H. (1989). The digestibility and energy content of grass silage and their prediction from laboratory measurements. *Animal Feed Science and Technology*, 24, 27-43.

Givens, D.I.; Moss A.R.; Adamson A.H. (1993a). Influence of growth stage and season on the energy value of fresh herbage. 2. Relationships between digestibility and metabolizable energy content and various laboratory measurements. *Grass and Forage Science,* 48,175-180.

Givens, D.I.; Moss, A.R., Adamson, A.H. (1993). Prediction of the digestibility and energy value of grass silage conserved in big bales. *Animal Feed Science and Technology*, 41, 297-312.

Goering H.K., Van Soest P.J. (1970) Forage fiber analysis (apparatus, reagents, procedures and some applications). En: Agriculture Handbook No. 379, USDA (Eds.), Washington, EEUU.

Goldman, A.; Genizi, A.; Yuzari, A.; Seligman, N.G. (1987). Improving the reliability of the two-stage in vitro assay for rumi-nant feed digestibility by calibration against *in vivo* data from awide range of sources. *Animal Feed Science and Technology*, 18, 233-245.

Gómez-Miranda, A.; González-Alcántara, F.; Plata-Reyes, D.; Pereira-Crespo, S.; Botana, A.; Valladares, J.; Veiga, M.; Resch, C.; Flores-Calvete, G. (2018). Efecto de la disponibilidad de agua sobre el rendimiento, composición química y valor nutricional del cultivo de maíz, girasol y sorgo cosechados para forraje en la zona seca de Galicia. En: Pastoralismo y vias pecuarias, conectando tradición e innovación. 57° Reunión Científica de la Sociedad Española de Pastos. III Congreso Nacional de Vías Pecuarias y Trashumancia, Roig e Barrantes (Eds.), Teruel, España, pp. 496-504.

Gordon, A.J. (1975). A comparison of some chemical and physical properties of alkali lignins from grass and lucerne hays before and after digestion by sheep. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 26, 1551-1559.

Gosselink, J.M.J.; Dulphy, J.P.; Poncet, C.; Jailler, M.; Tamminga, S.; Cone, J.W. (2004). Prediction of forage digestibility in ruminants using *in situ* and *in vitro* techniques. *Animal Feed Science and Technology*, 115, 227-246.

Griggs, T.C.; Lobos, K.B.; Kingery, P.E. (1999). Digestibility analysis of undried, unground, and dry ground herbage by near-infrared reflectance spectroscopy. *Crop Science*, 39, 1164-1170.

Groenewald, T.; Köster, H. (2006). Espectroscopía de infrarrojo cercano (NIRS) la técnica de análisis rápidos del futuro. Dispoñible en: http://www.engormix.com/espectroscopia_infrarrojo_cercano_nir_s_articulos_577_BAL.htm

Haaland, D.M.; Thomas, E.V. (1988). Partial least-squares methods for spectral analyses. 1. Relation to other quantitative calibration methods and the extraction of qualitative information. *Analytical Chemistry*, 60 (11), 1193-1202.

Hall, M.B.; Mertens, D.R. (2012). A ring test of *in vitro* neutral detergent fiber digestibility: Analytical variability and sample ranking. *Journal of Dairy Science,* 95 1992-2003.

Harper, F.; Donaldson, E.; Henderson, A.R.; Edwards, R.A. (1981). The potential of sunflower as a crop for ensilage and zero grazing in northern Britain. *Journal of Agricultural Science*, 96 (1), 45-53.

Hayes, D.J. (2011). Analysis of lignocellulosic feedstocks for biorefineries with a focus on the development of Near Infrared Spectroscopy as a primary analytical tool. PhD Thesis. University of Limerick, Irlanda. 832 pp.

Heaney, D. P.; Pigden, W. J. (1963). Interrelationships and conversion factors between expressions of the digestible energy value of forages. *Journal Animal Science*, 22, 956-960.

Henneberg, W.; Stohmann, F. (1859). Über das Erhaltungsfutter volljährigen Rindviehs. *Journal für Landwirtschaft*, 34, 485-551.

Herrero, M.; Jessops, N.S.; Fawcett, R.H.; Murray, I.; Dent, J.B. (1997). Prediction of the *in vitro* gas prodution dynamics of kikuyu grass by near-infrared reflectance spectroscopy using specially-structured sample populations. *Animal Feed Science and Technology*, 83, 31-47.

Heuzé, V.; Tran ,G.; Giger-Reverdin, S.; Lebas, F. (2015). Sorghum forage. Feedipedia, a programme by INRA, CIRAD, AFZ and FAO. Dispoñible en: https://www.feedipedia.org/node/379

Hicks, C.; Tuinstra, M.R.; Pedersen, J.F.; Dowell, F.E.; Kofoid, K.D. (2002). Genetic analysis of feed quality and seed weight of sorghum inbred lines and hybrids using analytical methods and NIRS. *Euphytica*, 127, 31-40.

Hoffman, P.C.; Brehm, N.M., Bauman, L.M., Peters, J.B., Undersander, D.J. (1999). Prediction of laboratory and *in situ* protein fractions in legume and grass silages using Near-Infrared Reflectance Spectroscopy. *Journal of Dairy Science*, 82 (4), 764-770.

Hölker, A.C.; Mayer, M.; Presterl, T.; Bolduan, T., Bauer, E.; Ordás, B., Brauner, P.C.; Ouzunova, M.; Melchinger, A.E.; Schön, C.C. (2019). European maize landraces made accessible for plant breeding and genome-based studies. *Theoretical and Applied Genetics*, 132 (12), 3333-3345.

Hristov, A.N.; Mertens, D.; Zaman, S.; Vander Pol, M.; Price, W.J. (2010). Variability in feed and total mixed ration neutral-detergent fibre and crude protein analyses among commercial laboratories. *Journal Dairy Science*, 93, 5348-5362.

Hristov, A.N.;. Bannink, A; Crompton, L.A.; Huhtanen, P.; Kreuzer, M.; McGee, M.; Nozière, P.; Reynolds, C.K.; Bayat, A.R.; Yáñez-Ruiz, D.R.; Dijkstra, J.; Kebreab, E.; Schwarm, A.; Shingfield, K.J.; Yu, Z. (2019). Invited review: Nitrogen in ruminant nutrition: A review of measurement techniques. *Journal of Dairy Science*, 102 (7), 5811-5852.

Hruschka, W.R. (1987). Data Analysis: Wavelength selection methods. En: Near Infrared Technology in the Agricultural and Food Industries. William e Norris (Eds.). American Association of Cereal Chemist Inc., St. Paul, Minnesota, EEUU. pp. 35-55.

Hsu, H., McNeil, A.; Okine, E.; Mathison, G.; Soofi-Siawash, R. (1998). Near infrared spectroscopy for measuring *in situ* degradability in barley forages. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, 6, 129-143.

Hsu, H.; Mathison, G.W.; McNeil, A.; Tsai, C.; Recinos-Diaz, G.; Okine, E.; McKenzie, R.H.; Wright S. (2000). Determination of feed quality for barley hay and silage by near infrared spectroscopy. En: Near Infrared spectroscopy: Proceedings 9th International Conference. Davis e Giangiacomo (Eds.). NIR Publications: Chichester, Reino Unido. pp. 643-649.

Huhtanen, P.; Ahvenjärvi, S.; Weisbjerg, M.R.; Nørgaard, P. (2006b). Digestion and passage of fibre in ruminants. En: Ruminant physiology: digestion, metabolism and impact of nutrition on gene expression, immunology and stress. Sejrsen *et al.* (Eds.), Wageningen Academic Publishers, Wageningen, The Netherlands, pp. 87-135.

Huhtanen, P.; Hristov, A.N. (2009). A meta-analysis of the effects of dietary protein concentration and degradability on milk protein yield and milk N efficiency in dairy cows. *Journal of Dairy Science,* 92, 3222-3232.

Huhtanen, P.; M. Rinne; J. Nousiainen. (2007). Evaluation of the factors affecting silage intake of dairy cows: A revision of the relative silage dry-matter intake index. *Animal*, 1 (5), 758-770.

Huhtanen, P.; Nousiainen, J.; Khalili, H.; Jaakkola, S.; Heikkilä, T. (2003). Relationships between silage fermentation characteristics and milk production parameters: Analyses of literature data. *Livestock Production Science*, 81 (1), 57-73.

Huhtanen, P.; Nousiainen, J.; Rinne, M. (2006a). Recent developments in forage evaluation with special reference to practical applications. *Agricultural and Food Science*, 15 (3), 293-323.

Huhtanen, P.; Rinne, M.; Nousiainen, J. (2009). A meta-analysis of feed digestion in dairy cows. 2. The effects of feeding level and diet composition on digestibility. *Journal of Dairy Science,* 92 (10), 5031-5042.

Hvelplund, T.; Weisbjerg, M.R. (2000). *In situ* techniques for the estimation of protein degradability and postrumen availability. En: Forage evaluation in ruminant nutrition. Givens (Ed.), CABI, Wallingford, Reino Unido, pp. 233-258.

Ibañez, L.; Alomar, D. (2008). Prediction of the chemical composition and fermentation parameters of pasture silage by Near Infrered Reflectance Spectroscopy (NIRS). *Chilean Journal of Agricultural Research*, 68 (4), 352-359.

INRA (1989). Ruminant Nutrition. Recommended allowances and feed tables. J. Jarrige. (Ed). Institut National de la Recherche Agronomique, John Libbey Eurotext (Ed.), París, Francia, 389 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.

INRA (2018) INRA feeding system for ruminants. D. Sauvant; P. Nozière:Wageningen Academic Publishers, Wageningen, The Netherland.

ISO 5725-1:1994 Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results - Part 1: General principles and definitions. Dispoñible en: https://www.iso.org/standard/11833.html

Jafari, A.; Connolly, V.; Frolich, A.; Walsh, E.J. (2003). A note on estimation of quality parameters in perennial ryegrass by near infrared reflectance spectroscopy. *Irish Journal of Agricultural and Food Research*, 42, 293-299.

Jančík, F.; Homolka, P.; Čermák, B.; Lád, F. (2008). Determination of indigestible neutral detergent fibre contents of grasses and its prediction from chemical composition. *Czech Journal of Animal Science*, 53 (3), 128-135.

Jarrige, R. (1980). Chemical methods for predicting the energy and protein values of forages. *Annales de Zootechnie*, INRA/EDP Sciences, 29 (hors-série), 299-323.

Jenisch, T.O.; Paul, C.; Kunze, C. (1994). Application of the near infrared reflectance spectroscopy for the feedstuff analysis of tropical forage plants. *Angewandte Botanik*, 68, 127-135.

Johnson, L.; Harrison, J.H.; Hunt, C.; Shinners, K.; Doggett, C.G.; Sapienza, D. (1999). Nutritive value of corn silage as affected by maturity and mechanical processing: a contemporary review. *Journal of Dairy Science,* 82, 2813-2825.

Johnson, R.R.; DeFaria, V.P.; McClure, K.E. (1971). Effects of maturity on chemical composition and digestibility of bird resistant sorghum plants when fed to sheep as silage. *Journal of Animal Science*, 33 (5),1102-1109.

Jones, G.M.; Wade, N.S.; Baker, J.P.; Ranck, E.M. (1987). Use of Near Infrared Reflectance Spectroscopy in forage testing. *Journal of Dairy Science*, 70, 1086-1091.

Jones, D.I.H.; Moseley, G. (1993). Laboratory methods for estimating nutritive quality. En: Sward Measurement Handbook. Davies *et al.* (Eds.); A.S. Laidlaw. British Grassland Society. Reading. Reino Unido. pp. 265-283.

Jones, D.I.H.; Hayward, M.V. (1975). The effect of pepsin pretreatment of herbage on the prediction of dry matter digestibility from solubility in fungal cellulase solution. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 26, 711-718.

Juan, N.A.; Ortiz, D.A.; Pordomingo, A.B.; Funaro, D.O (2016a). Tecnología NIRS para estimar el valor nutritivo de planta entera de maíz y sorgo para silaje y sus fracciones (tallo, hoja, panoja/espiga). *Revista de la Asociación Argentina de Producción Animal*, 36 (1), 230.

Juan, N.A.; Ortiz, D.A.; Ruiz, M. (2016b). Análisis de calidad de gramíneas forrajeras perennes de ciclo otoño-inverno-primaveral con tecnología NIRS. *Revista Argentina de Producción Animal*, 36 (1), 229.

Jung, H.G.; Mertens, D.R.; Buxton, D.R. (1998). Forage quality variation among maize inbreds: *In vitro* fiber digestion kinetics and prediction with NIRS. *Crop Science*, 38, 205-210.

Jung, H.J.G. (1997). Analysis of forage fiber and cell walls in ruminant nutrition. *American Society for Nutritional Sciences*, 127 (5), 810-813.

Kański, J.; Kowalski, Z.M. (2001). The use of NIRS for prediction of protein content in residues after incubation in the rumen. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 10, 363-367.

Kański, J.; Kowalski, Z. (2005). Protein degradability of silages in the rumen estimated by NIRS. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 14, 567-570.

Kański, J.; Pyś, J.B.; Górka, P. (2013). Prediction of the nutritive value of wet whole-crop sorghum silage according to the INRA feeding system by near-infrared spectroscopy. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 22, 360-365.

Kennedy, C.A. (1996). NIRS analysis of intact grass silage and fresh grass for the prediction of dry matter, crude protein and acid detergent fiber. MSc Thesis. University of British Columbia, Canadá, 96 pp.

Khaleduzzaman, A.B.M.; Enamul Haq Hazary, M.; Emdadul Haque, M.; Shafiqul Islam, M. (2013). Nitrogen and phosphorus fertilization for jumbo (*Sorghum bicolor* x *Sorghum sudanese*) forage production and evaluation by using Near Infrared Reflectance Spectroscopy. *International Journal of Agronomy and Plant Production*, 4, 3576-3582.

Khazaal, K.; Dentinho, M.T.; Ribeiro, J.M., Ørskov, E.R. (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.

Ki, K.S.; Kim, S.B.; Lee, H.J., Yang, S.H.; Lee, J.S.; Jin, Z.L.; Kim, H.S.; Jeo, J.M.; Koo, J.Y.; Cho, J.K. (2009). Prediction on the quality of total mixed ration for dairy cows by Near Infrared Reflectance Spectroscopy. *Journal of the Korean Society of Grassland and Forage Science*, 29 (1), 31-36.

Kitessa, S.; Flinn, P.C.; Irish, G.G. (1990). Comparison of methods used to predict the *in vivo* digestibility of feeds in ruminants. *Australian Journal of Agricultural Research*, 50, 825-841.

Kjos, N.P. (1991). Evaluation of the feeding value of fresh forages, silage and hay using near infrared reflectance analysis (NIR). *Norwegian Journal of Agricultural Sciences*, 5, 61-78.

Krizsan, S.; Huhtanen, P. (2013). Effect of diet composition and incubation time on feed indigestible neutral detergent fiber concentration in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 96, 1715-1726.

Krizsan, S.; Nyholm, L.; Nousiainen, J.; Südekum, K.; Huhtanen, P. (2012). Comparison of *in vitro* and *in situ* methods in evaluation of forage digestibility in ruminants. *Journal of animal science*, 90, 3162-3173.

Latorre, A. (2017). Desarrollo de nuevas metodologías analíticas para evaluar la incidencia y la estabilidad de micotoxinas del género *Fusarium* en forrajes de maíz ensilados. Tese doutoral. Universidade de Santiago de Compostela. España. 248 pp.

Li, X.; Ison, R.L., Kellaway, R.C., Stimson, C.; Annison, G.; Joyce, D.C. (2012). Agronomic characteristics of annual *Trifolium* legumes and nutritive values as predicted by near-infrared reflectance (NIR) spectroscopy. *Crop and Pasture Science*, 62, 1078-1087.

Lindgren, E. (1983). The use of near infrared reflectance spectroscopy for predicting energy value of grass. *Swedish Journal of Agricultural Research*, 13, 229-233.

Linn, J.; Hutjens, M.; Shaver, R.; Otterby, D.; Howard, W.T.; Kilmer, L. (2018). Formulating dairy cow rations. University of Minnesota Extension. Dispoñible en: https://extension.umn.edu/dairy-milking-cows/formulating-dairy-cow-rations

Liu, X.; Han, L.; Yang, Z.; Xu, Ch. (2008). Prediction of silage digestibility by near infrared reflectance spectroscopy. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 17, 631-639.

Lobos I., Gou P., Saldana R., Alfaro M. (2013) Evaluation of potential NIRS to predict pastures nutritive value. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 13, 463-468

López, S.; Dijkstra, J.; France, J. (2000). Prediction of energy supply in ruminants, with emphasis on forages. En: Forage evaluation in ruminant nutrition. Givens *et al.* (Eds.). CAB International, Wallingford, Reino Unido, pp. 63-94.

López-Iglesias, E. (2015). O complexo lácteo galego nun mercado liberalizado. Estratexias e políticas ante a desaparición do sistema de cotas na UE. Foro económico de Galicia, Documento 13/2015.

Lovett, D.K.; Deaville, E.R.; Mould, F.; Givens, D.I.; Owen, E. (2004). Using near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) to predict the biological parameters of maize silage. *Animal Feed Science and Technology*, 11 (1-2), 179-187.

Lucas, H.L. (1964). Stochastic elements in biological models; their sources and significance. En: Stochastic Models in Medicine and Biology. Gurland (Ed.),University of Wisconsin Press, Madison, EEUU, pp. 355-383.

Lundberg, K.M., Hoffman, P.C.; Bauman, L.M. (2004). Prediction of forage energy content by Near Infrared Reflectance Spectroscopy and Summative Equations. *The Professional Animal Scientist*, 20 (3), 262-269.

Mafakher, E.; Meskarbashee, M.; Hassibi, P.; Mashayekhi, M.R. (2010). Evaluation of sunflower silage in different developmental stages. *Asian Journal of Crop Science*, 2, 20-24.

MAFF (1984). Energy Allowances and Feeding Systems for Ruminants. HMSO, Ministry of Agriculture, Fisheries and Food (Ed.), London, Reino Unido.

Mahalanobis, P.C. (1936). On the generalized distance in statistics. *Proceedings of the National Institute of Science* (India), 2 (1), 49-55.

MAPA (1995). Métodos oficiales del MAPA BOE nº 52, del 2 de marzo de 1995, pp. 7161-7237.

Mark, H. (1991). Calibration practice. En: Principles and Practice of Spectroscopic Calibration, Wineforder (Ed.). John Wiley e Sons, Inc. NY-EEUU, pp. 85-146.

Mark, H.; Ritchie, G.E.; Roller, R.W.; Ciurszak, E.W.; Tso, C.; MacDonald, S.A. (2002). Validation of a near-infrared transmission spectroscopic procedure, part A: validation protocols. *Journal of pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 28, 251-260.

Mark, H.; Workman, J. (2003). Statistics in Spectroscopy. Elsevier – Academic Press, Amsterdam.

Maroto-Molina, F.; Gómez-Cabrera, A.; Guerrero-Ginel, J.E.; Garrido-Varo, A., Pérez-Marín, D.C. (2011). La valoración nutricional de los alimentos para el ganado: génesis de la información. En: XXVII Curso de Especialización FEDNA. Fundación para el Desarrollo de la Nutrición Animal, Rebollar *et al*. (Eds.), Madrid, España, pp. 51-68.

Marten, G.C.; Brink, G.E.; Buxton, D.R.; Halgerson, J.L.; Hornstein, J.S. (1984). Near infrared reflectance spectroscopy analysis of forage quality in four legume species. *Crop Science*, 24, 1179-1182.

Marten, G.C.; Goodrich, R.D.; Schmid, A.R.; Meiske, J.C.; Jordan, R.M.; Linn, J.G. (1975). Evaluation of laboratory methods for determining quality of corn and sorghum

silages: II. Chemical methods for predicting *in vivo* digestibility. *Agronomy Journal*, 67 (2), 247-251.

Marten, G.C.; Halgerson, J.L.; Cherney, J.H. (1983). Quality prediction of small grain forages by Near Infrared Reflectance Spectroscopy. *Crop Science*, 23, 94-96.

Marten, G.C.; Shenk, J.S; Barton II, F.E. (1989). Near Infrared Reflectance Spectroscopy (NIRS): Analysis of Forage Quality. U.S. Department of Agriculture, Agriculture Handbook No. 643. Washington, D.C., EEUU.

Martens, H.; Martens, M. (2001). Multivariate Analysis of Quality: an introduction. John Wiley & Sons. Inc., Chichester, Reino Unido.

Martens, H.; Næs, T. (1987). Multivariate calibration by data compression. En: Near-infrared technology in the agricultural and food industries, Williams e Norris (Eds.), American Association of Cereal Chemists, Inc. St. Paul, Minnesota, EEUU, pp. 57-88.

Martínez Fernández, A.; De la Roza Delgado, M.B.; Argamentería Gutiérrez, A. (1990) Valoración bromatológica de ensilados de hierba de la zona litoral de Asturias por reflectancia de infrarrojos. En: XXX Reunión Científica de la S.E.E.P, Sociedad Española para el Estudio de los Pastos (Ed.), San Sebastián-Donostia, España, pp. 256-263.

Massart, D.L.; Vandegiste, B.G.M.; Buydens, L.M.C.; De Jong, S.; Lewi, P.J.; Smeyers, J. (1997). Handbook of chemometrics and qualimetrics, Elsevier Science (Ed.), Amsterdam.

McBeth, L.R.; N.R. St-Pierre; D.E. Shoemaker; W.P. Weiss. (2013). Effects of transient changes in silage dry matter concentration on lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 96, 3924-3935.

McDonald, P. (1979). Silage fermentation. En: Forage conservation in the 80´s. E.G.F. Occasional Sympossium nº 11, Thomas (Ed), British Grassland Society. Brighton, Reino Unido. pp. 67-75.

McLeod, M.N.; Minson, D.J. (1978). The accuracy of the pepsin-cellulase technique for estimating the dry matter digestibility *in vivo* of grasses and legumes. *Animal Feed Science and Technology*, 3 (4), 277-287.

McQueen, R.; Van Soest, P.J. (1975). Fungal cellulase and hemicellulase prediction of forage digestibility. *Journal of Dairy Science,* 58, 1482-1491.

McRoberts, K.C.; Cherney, D.J.R. (2014) Low-infrastructure filter bag technique for neutral detergent fiber analysis of forages. *Animal Feed Science and Technology,* 187, 77-85.

Melchinger, A.E.; Schmidt, G.A.; Geiger, H.H. (1986). Evaluation of near infra-red reflectance spectroscopy for predicting grain and stover quality traits in maize. *Plant Breeding*, 97, 20-29.

Menke, K. H.; Raab, L.; Salewski, A.; Steingass, H.; Fritz, D.; Scheinder, W. (1979). The estimation of the digestibility and metabolisable energy content of ruminant feedingstuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor *in vitro*. *Journal of Agricultural Science Cambridge*, 93, 217-22.

Mentink, R.L.; Hoffman, P.C.; Bauman, L.M. (2006). Utility of near-infrared reflectance spectroscopy to predict nutrient composition and *in vitro* digestibility of total mixed rations. *Journal of Dairy Science*, 89 (6), 2320-2326.

Millmier, A.; Lorimor, J.; Hurburgh, JR.C.; Fulhage, C.; Hattey, J.; Zhang, H. (2000). Near-infrared sensing os manure nutrients. *Transactions of the ASAE*, 43 (4), 903-908.

Minson, D.J. (1982). Effect of chemical composition on feed digestibility and metabolisable energy. *Nutrition Abstracts and Reviews,* 52B, 591-615.

Minson, D.J. (1990). Forage in Ruminant Nutrition. Academic Press, London, Reino Unido.

Moe, A.J.; Carr, B. (1984). Laboratory analyses and Near Infrared Reflectance for predicting *in vitro* digestibility of rye silage. *Journal of Dairy Science*, 67 (6), 1301-1305.

Moe, A.J.; Carr, B. (1985). Laboratory assays and Near-Infrared Reflectance Spectroscopy for estimates of feeding value of corn silage. *Journal of Dairy Science*, 68, 2220-2226.

Morrison, I.M. (1972a). A semi-micro method for the determination of lignin and its use in predicting the digestibility of forage crops. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 23, 455-463.

Morrison, I.M. (1972b). Improvements in the acetyl bromide technique to determine lignin and digestibility and its application to legumes. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 23, 1463-1469.

Moss, A.R., Givens D. I. (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.

Murray, I. (1986). Near infrared reflectance spectroscopy. En: Recent Advances in Animal Nutrition. Studies in the agricultural and food sciences. Haresign e Cole (Eds.), Butterworths, Reading, Reino Unido, pp. 141-156.

Murray, I. (1990). Application of NIRS in agriculture. En: Proceedings of the Second International Near Infrared Spectroscopy Conference. Iwamoto e Kawano (Eds.), Korin Publishing Co. Ltd., Tokyo, Japón, pp. 11-20.

Murray, I. (1993). Forage analysis by Near Infra-Red Reflectance Spectroscopy. En: Sward herbage measurement handbook, Davies *et al*. (Eds.). British Grassland Society, Reading, Reino Unido, pp. 285-312.

Næs, T.; Isaksson, T.; Fearn, T.; Davies, T. (2002). A user-friendly guide to multivariate calibration and classification. NIR Publications, Chichester, Reino Unido.

Nasrollahi, S.M.; Imani, M; Zebel, Q. (2015). A meta-analysis and meta-regression of the effect of forage particle size, level, source, and preservation method on feed intake, nutrient digestibility, and performance in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 98, 8926-8939.

National Research Council (NRC) (2001). Nutrient Requirements of Dairy Cattle, National Academy Press (Ed.), Washington DC, EEUU, 381 pp.

Nordheim, H.; Volden, H.; Fystro, G.; Lunnan, T. (2007). Prediction of *in situ* degradation characteristics of neutral detergent fibre (aNDF) in temperate grasses and red clover using near-infrared reflectance spectroscopy (NIRS). *Animal Feed Science and Technology*, 139, 92-108.

Norman, H.C.; Hulm, E.; Humphries, A.W.; Hughes, S.J.; Vercoe, P.E. (2020). Broad near-infrared spectroscopy calibrations can predict the nutritional value of >100 forage species within the Australian feed base. *Animal Production Science*, 60, 1111-1122.

Norris, K.H. (1989). Definition of NIRS Analysis. En: Near Infrared Reflectance Spectroscopy (NlRS): Analysis of Forage Quality. Marten *et al*. (Eds). USDA, Agriculture Handbook nº 643, pp. 6.

Norris, K.H.; Barnes, R.F.; Moore, J.E.; Shenk J.S. (1976). Predicting forage quality by Near Infrared Reflectance Spectroscopy. *Journal of Animal Science*, 43, 889-897.

Nousiainen, J. (2004). Development of tools for the nutritional management of dairy cows on silage-based diets. PhD Academic dissertation. University of Helsinki, Department of Animal Science Publications 72, Finlandia, 61 pp. Dispoñible en: http://ethesis.helsinki.fi/julkaisut/maa/kotie/vk/nousiainen

Nousiainen, J.; Ahvenjärvi, S.; Rinne, M.; Hellämäki, M.; Huhtanen, P. (2004). Prediction of indigestible cell wall fraction of grass silage by near infrared reflectance spectroscopy. *Animal Feed Science and Technology*, 115, 295-311.

Nousiainen, J.; Rinne, M.; Hellämäki, M.; Huhtanen, P. (2003a). Prediction of the digestibility of the primary growth of the grass silages harvested at different stages of maturity from chemical composition and pepsin-cellulase solubility. *Animal Feed Science and Technology,* 103, 97-111.

Nousiainen, J.; Rinne, M.; Hellämäki, M.; Huhtanen, P. (2003b). Prediction of the digestibility of primary growth and regrowth grass silages from chemical composition, pepsin-cellulase solubility and indigestible cell wall content. *Animal Feed Science and Technology,* 110, 61-74.

O'Keeffe, M.; Downey, G.; Brogan, J.C. (1987). The use of near infrared reflectance spectroscopy for predicting the quality of grass silage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 38, 209-216.

Ohlsson, C.; Houmøller, L.P., Weisbjerg, M.R., Lund, P.; Hvelplund, T. (2007). Effective rumen degradation of dry matter, crude protein and neutral detergent fibre in forage determined by near infrared reflectance spectroscopy. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 91, 498-507.

Olmos-Colmenero, J.; Broderick, G.A. (2006). Effect of dietary crude protein concentration on milk production and nitrogen utilization in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 89 (5), 1704-1712.

Ørskov, E.R.; McDonald, I. (1979). The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *Journal of Agricultural Science Cambridge*, 92, 499-503.

Osborne, B.G.; Fearn, T.; Hindle, P. (1993). Practical NIR Spectroscopy with applications in food and beverage analysis. Longman Scientific and Tecnnical (Ed.), London, Reino Unido.

Osbourn, D.F., (1978). Principles governing the use of chemical methods for assessing the nutritive value of forages: A review. *Animal Feed Science and Technology*, 3 (4), 265-275.

Osoro, K.; Cebrián, M. (1986). Predicción de la digestibilidad e ingestión de la materia seca del pasto por parámetros químicos. *Investigación Agraria: Producción y Sanidad Animal*, 1 (3), 187-199.

Palmonari, A.; Fustini, M.; Canestrari, G.; Grilli, E.; Formigoni, A. (2014). Influence of maturity on alfalfa hay nutritional fractions and indigestible fiber content. *Journal of Dairy Science*, 97, 7729-7734.

Park, H.; Lee, S.; Choi, K.; Kim, J.; So, M.; Kim, H. (2015). Prediction of chemical composition and fermentation parameters in forage sorghum and sudangrass silage using Near Infrared Spectroscopy. *Journal of the Korean Society of Grassland and Forage Science*, 35 (3), 257-263

Park, H.S.; Lee, J.K.; Dim, M.C. (2005). Sample preparation method for Near Infrared Reflectance Spectroscopy to predict fermentation quality of maize silage. En: XX International Grassland Congress: Offered Papers EDS, O'Mara *et al*. (Eds), Wageningen Academic Publishers, Belfast, Northern Ireland, pp. 262.

Park, R.S.; Agnew, R.E.; Gordon, F.J.; Steen, R.W.J. (1998). The use of near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) on undried samples of grass silage to predict chemical composition and digestibility parameters. *Animal Feed Science and Technology*, 72, 155-167.

Park, R.S.; Agnew, R.E.; Kilpatrick, D.J. (2002). The effect of freezing and thawing on grass silage quality predictions based on near infrared reflectance spectroscopy. *Animal Feed Science and Technology*, 102, 151-167.

Park, R.S.; Gordon, F.J.; Agnew, R.E., Barnes, R.J., Steen, R.W.J. (1997). The use of Near Infrared Reflectance Spectroscopy on dried samples to predict biological parameters of grass silage. *Animal Feed Science and Technology*, 68, 1235-1246.

Parrini, S.; Acciaioli, A.; Franci, O.; Pugliese, C.; Bozzi, R. (2019) Near Infrared Spectroscopy technology for prediction of chemical composition of natural fresh pastures. *Journal of Applied Animal Research*, 47 (1), 514-520.

Peiretti, P.G.; Meineri, G. (2010). Evolution of chemical composition, nutritive value and fatty acids content of sunflower (*Helianthus annuus* L.) during the growth cycle. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 9 (1), 112-117.

Pereira-Crespo, S., Fernández-Lorenzo, B.; Valladares-Alonso, J.; González-Arráez, A.; Flores-Calvete, G. (2010a). Variación del valor nutritivo de variedades de triticale para forraje en función de la fecha de corte. En: Pastos: fuente natural de energía. Calleja *et al*. (Eds.), Sociedad Española para el Estudio de los Pastos. Universidad de León, España, pp. 229-234.

Pereira-Crespo, S.; Barreal, M.; Rodríguez, M.; Lorenzana, R.; Flores, G. (2015a). Evolución da calidade dos ensilados de herba nas explotacións galegas. Campo Galego. Dispoñible en: https://www.campogalego.gal/evolucion-da-calidade-dos-ensilados-de-herba-nas-explotacions-galegas/

Pereira-Crespo, S.; Díaz, N.; Piñeiro, J.; Plata-Reyes, D.; Gómez-Miranda, A.; González-Alcántara, F.; Botana, A.; Veiga, M.; Valladares, J.; González, L.; Resch, C.; Flores-Calvete, G. (2018a). O sorgo como alternativa forraxeira ao cultivo do millo *Vaca Pinta*, 5, 116-124.

Pereira-Crespo, S.; Fernández-Lorenzo, B.; Valladares, J.; González-Arráez, A.; Flores, G. (2010b). Effects of seeding rates and harvest date on forage yield and nutritive value of pea-triticale intercropping. *Options Méditerranéennes. Series* A, 92, 215-218.

Pereira-Crespo, S.; Fernández-Lorenzo, B.; Valladares-Alonso, J.; Díaz-Díaz, N.; Resch-Zafra, C.; González-Arráez, A.; Flores-Calvete, G. (2014). Evolución del rendimiento y calidad del girasol (*Helianthus annuus* L.) aprovechado para forraje tras la floración y desarrollo de calibraciones NIRS para la predicción del valor nutricional de los componentes morfológicos. *Pastos*, 44 (2),19-30.

Pereira-Crespo, S.; Flores-Calvete, G.; González-Arráez, A.; Valladares-Alonso, J.; Fernández-Lorenzo, B. (2009). Variación del valor nutritivo de variedades de guisante para forraje en función de la fecha de corte. En: La multifuncionalidad de los pastos: producción ganadera sostenible y gestión de los ecosistemas. Reiné *et al*. (Eds.), Sociedad Española para el Estudio de los Pastos, Huesca, España, pp. 367-374.

Pereira-Crespo, S.; Plata-Reyes, D.; Gómez-Miranda A.; González-Alcántara F.; Veiga, M.; Botana, A.; Valladares, J.; Resch, C.; Flores-Calvete, G. (2018b). Comparação do potencial forrageiro e valor nutritivo de milho e sorgo para silagem en regime de sequeiro úmido na Galiza. En: Livro de Resumos-XXXIX Reunião de primavera da SPPF, Forragens e Pastagens no Noroeste Atlântico, Sociedade Portuguesa de Pastagens e Forragens (Ed.), Ponte de Lima, Portugal, pp. 35-36.

Pereira-Crespo, S.; Valladares, J.; Flores, G.; Díaz, N.; Fernández-Lorenzo, B.; Resch, C.; González-Arráez, A.; González-Arráez, A.; Bande-Castro, M.J.; Rodríguez-Díz, X.; Piñeiro, J. (2012). New annual legumes as winter crops for intensive forage rotations in

Galicia (NW Spain). II-Nutritive Value. *Options méditerranéennes. Series A: Mediterranean Seminar*s, 102, 251-255.

Pereira-Crespo, S.; Valladares-Alonso, J.; Fernández-Lorenzo, B., González-Arráez, A.; Díaz, N., Resch, C.; Botana, A.; Flores-Calvete, G. (2015b). Efecto del presecado y el uso de inoculante sobre la calidad fermentativa de ensilados de leguminosas anuales. En: Pastos y Forrajes en el siglo XXI, Cifré Llompart *et al*. (Eds.), Sociedad Española para el Estudio de los Pastos, Palma de Mallorca, España. pp. 169-176.

Peyrat, J.; Nozière, P.; Férard, A.; Le Morvan, A.; Meslier, E.; Protin, P.V.; Carpentier, B.; Baumont, R. (2016). Prévoir la digestibilité et la valeur énergétique du maïs fourrage : Guide des nouvelles références, ARVALIS - Institut du végétal – INRA, 9 pp.

Pflaum, J.; Gartner, L.; Demarquilly, C.; Andrieu, J. P.; Honig, H., Staudacher, W.; Wyss, U. (1997). Silage additive testing. Comparison of the German DLG and the French INRA Schemes. *Das Wirtschaftseigene Futter*, 42 (3), 217-248.

Piñeiro, J.; Díaz, N. (2005). La producción forrajera en la España húmeda. En: En: Producciones Agroganaderas: Gestión eficiente y conservación del medio natural. K. Osoro *et al*. (Eds.). AsturGraf, S.L. Gijón, España, pp. 425-463.

Piñeiro-Andión, J.; Díaz-Díaz, N.; Bande-Castro, M.J.; Fernández-Paz, J. (2011). Mejora de praderas por siembra sin laboreo. En: Pastos, paisajes culturales entre tradición y nuevos paradigmas del siglo XXI. López-Carrasco *et al*. (Eds.), Sociedad Española para el Estudio de los Pastos, Toledo, España, pp. 313-318.

Piñeiro-Andión, J.; Díaz-Díaz, N.; Fernández-Paz, J.; Bande-Castro, M.J. (2010). Leguminosas anuais para a mellora de pastos en montes de veciños de Allariz e Celanova. *Afriga*, 88, 8-22.

Piñeiro-Andión, J.; Díaz-Díaz, N.; Fernández-Paz, J.; Castro-Losada, M.; Bande-Castro, M.J. (2008). Leguminosas anuales para la mejora de pastos en Galicia. En: Pastos, clave en la gestión de los territorios: Integrando disciplinas. Fernández-Rebollo *et al.* (Eds.), Sociedad Española para el Estudio de los Pastos, Córdoba, España, pp. 177-182.

Plata-Reyes, D.; González-Alcántara, F.; Gómez-Miranda, A.; Pereira-Crespo, S.; Botana, A.; Valladares, J.; Veiga, M.; Resch, C.; Flores-Calvete, G. (2018). Efecto de la disponibilidad de agua y de la inoculación con micorrizas sobre el rendimiento y valor nutricional del cultivo de maíz forrajero en la zona interior de Galicia. En: Pastoralismo y vías pecuarias. Conectando tradición e innovación, Roig e Barrantes (Eds.), Sociedad Española para el Estudio de los Pastos, Teruel, España, pp. 505-513.

Poblaciones, M.J.; Rodrigo, S.; Simões, N.; Tavares-de-Sousa, M.M.; Bagulho, A.; Olea, L. (2008). Instantaneous determination of chemical composition of *Festuca* sp. and *Dactiylis* sp. at two different cut times using NIRS. *Options Méditerranéennes*, *Series A*, 79, 227-230.

Raymond, W.F. (1969). The nutritive valué of forage crops. En: *Advances in Agronomy*, 21, N.C. Brady (Ed.), Academic Press, New York, EEUU, 340 pp.

Red Española de Alimentación Animal (2006). Banco de datos de forrajes y subproductos en que se determinó la digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica e informe de resultados del análisis estadístico de predicción de DMO *in vivo* por diversos métodos. Dispoñible en: http://www.serida.org/redalan/dovivo.php

Redshaw, E.S.; Mathison, G.W.; Milligan, L.P.; Weisenburger, R.D. (1986). Near IR reflectance spectroscopy for predicting forage composition and voluntary consumption and digestibility in cattle and sheep. *Canadian Journal of Animal Science*, 66, 103-115.

Reeves III, J.B. (1988a). Near IR reflectance spectroscopic analysis of sodium chlorite-treated forages and other plant materials. *Journal of Dairy Science*, 71 (1), 143-151.

Reeves III, J.B. (1988b). Chemical assays for fiber, lignin, and lignin components: interrelationships and near infrared reflectance spectroscopic analysis. *Journal of Dairy Science*, 71 (11), 2976-2985.

Reeves III, J.B. (1994). Use of Near Infrared Reflectance Spectroscopy as a tool for screening treated forages and by-products. *Journal of Dairy Science*, **77** (4), 1030-1037.

Reeves III, J.B.; Blosser, T.H. (1991). Near infrared spectroscopic analysis of undried silages as influenced by sample gring, presentation method and spectral region. *Journal of Dairy Science*, 74, 882-895.

Reeves III, J.B.; Blosser, T.H.; Balde, A.T.; Glenn, B.P.; Vandersall, J. (1991). Near infrared spectroscopic analysis of forage samples digested *in situ* (nylon bag). *Journal of Dairy Science*, 74, 2664-2673.

Reeves III, J.B.; Blosser, T.H.; Colenrander, V.F. (1989). Near Infrared Reflectance Spectroscopy for analyzing undried silage. *Journal of Dairy Science*, 72, 79-88.

Resch, C.; Bande-Castro, M.J.; Pereira-Crespo, S.; Fernández-Lorenzo, B.; Flores, G. (2013). Evaluación de variedades comerciales de sorgo forrajero en siembras tardías en la Galicia Atlántica. En: Los Pastos: nuevos retos, nuevas oportunidades. Olea *et al.* (Eds.), Sociedad Española para el Estudio de los Pastos, Badajoz, España. pp. 147-154.

Restaino, E. A.; Fernandez, E. G.; La Manna, A.; Cozzolino, D. (2009). Prediction of the nutritive value of pasture silage by Near Infrared Spectroscopy (NIRS). *Chilean Journal of Agricultural Research,* 69(4), 560-566.

Rezende, A.V.; Evangelista, A.R.; Siqueira, G.R.; Tosi, H.; Silveira, A.C.; Bernardes, T.F. (2002). Avaliação do potencial do girassol (*Helianthus annuus* L.) como planta forrageira para ensilagem na safrinha, em diferentes épocas de cortes. *Ciência e Agrotecnologia*, 26, Edição Especial, 1548-1553.

Ribeiro, J.M.C.R.; Moreira, O.M.S.C. (1998). Comments on feed evaluation methods used in the project. *Options Méditerranéennes: Séries B*, 17, 79-91.

Rinnan, A.; Nørgaard, L.; van den Berg, F.; Thygesen, J.; Bro, R.; Engelsen, S.B. (2009). Data pre-procesing. En: Infrared spectroscopy for food quality analysis and control. D. Sun (Ed.), Academy Press - Elsevier, Inc, EEUU, pp. 27-50.

Rinne, M. (2000). Influence of the timing of the harvest of primary grass growth on herbage quality and subsequent digestion and performance in the ruminant animal. PhDoctoral Dissertation. University of Helsinki, Finland. 49 pp. Dispoñible en: http://urn.fi/URN:ISBN:952-91-3015-5.

Riveros, G. E; Argamentería, A. (1987). Métodos enzimáticos de predicción de la digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica de forrajes. I. Forrajes verdes; II. Henos; III. Ensilados y pajas. *Avances en producción animal*, 12, 49-75.

Robert, P.; Bertrand, D.; Demarquilly, C. (1986). Prediction of forage digestibility by principal components analysis of near infrared reflectance spectra. *Animal Feed Science and Technology*, 16, 215-224.

Roberts, C.A.; Stuth, J.W.; Finn, P.C. (2003). NIRS applications in forages and feedstuffs. En: Near Infrared Spectroscopy in Agriculture. Roberts *et al*. (Eds.). American Society of Agronomy; Crop Science Society of America; Soil Science Society of America: Madison, WI, EEUU, pp. 231-267.

Rohweder, D.A.; Barnes, R.F.; Jorgensen, N. (1978). Proposed hay grading standards based on laboratory analyses for evaluating quality. *Journal of Animal Science*, 47(3), 747-759.

Rotz, C.A. (2004). Management to reduce nitrogen losses in animal production. *Journal of Animal Science*, 82, E119-E137.

Saeys, W.; Mouazen, A.M.; Ramon, H. (2005). Potential for on site analysis of pig manure using Visible and Near Infrared Reflectance Spectroscopy. *Biosystems Engineering*, 91 (4), 393-402.

Saha, U.; Endale, D.; Tillman, P.G.; Johnson, W.C.; Gaskin, J.; Sonon, L.; Schomberg, H.; Yang, Y.G. (2017). Analysis of various quality attributes of sunflower and soybean plants by Near Infrared Reflectance Spectroscopy: Development and validation calibration models. *American Journal of Analytical Chemistry*, 8, 462-492.

Sainz-Ramírez, A.; Botana, A., Valladares, J.; Pereira-Crespo, S.; M. Veiga, M.; Resch, C.; Flores-Calvete, G. (2017a). Efecto de la disponibilidad de agua sobre el rendimiento, composición química y valor nutricional de tres variedades de girasol cosechadas para forraje en la zona seca de Galicia. En: Renaturalización vs. Ruralización (Rewilding vs. Re-farming). Bartolomé *et al*. (Eds.). Sociedad Española para el Estudio de los Pastos, Barcelona, España, pp. 96-101.

Sainz-Ramírez, A.; Botana, A.; Pereira-Crespo, S.; González-González, L.; Veiga, M.; Resch, C.; Valladares, J.; Arriaga-Jordán, C.M.; Flores-Calvete, G. (2020). Efecto de la fecha de corte y del uso de aditivos en la composición química y calidad fermentativa de ensilado de girasol. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 11 (3), 620-637.

Sainz-Ramírez, A.; Botana, A.; Valladares, J.; Pereira-Crespo, S.; Veiga, M.; Resch, C.; Flores-Calvete, G. (2017b). Efecto de la variedad y de la fecha de corte sobre el rendimiento y el valor nutritivo del girasol cosechado para ensilar en la zona atlántica de Galicia. En: Renaturalización vs. Ruralización (Rewilding vs. Re-farming). Bartolomé

et al. (Eds.). Sociedad Española para el Estudio de los Pastos, Barcelona, España, pp. 102-107.

SAS (2012). SAS System, Version 9.4, SAS Institute Inc., Cary, NC, EEUU.

Schmid, A.R.; Goodrich, R.D.; Jordan, R.M.; Marten, G.C.; Meiske, J.C. (1976). Relationships among agronomic characteristics of corn and sorghum cultivars and silage quality. *Agronomy Journal*, 68, 403-406.

Sheldrick, R.; Thomson, D.; Newman, G. (1987). Forage peas. En: Legumes for milk and meat. Chalcombe Publications (Ed.), Marlow, Bucks, Reino Unido. pp. 77-80.

Shelley, C. (2013). The generation of Near Infrared Reflectance Spectroscopy (NIRS) equations for the prediction of chemical composition, *in vivo* digestibility, and degradability on fresh scanned maize silage. University of Reading, Reino Unido, 13 pp. Dispoñible en: https://ahdb.org.uk/maize-silage-nirs

Shenk, J.; Westerhaus, M.O. (1993a). Analysis of agriculture and food products by Near Infrared Reflectance Spectroscopy. Monograph. Department of Agronomy, Pennsylvania State University, Owners of Infrasoft International, Port Matilda, PA, EEUU.

Shenk, J.; Westerhaus, M.O. (1993b). Near Infrared Reflectance analysis with single and multiproduct calibrations. *Crop Science*, 33 (3), 582-584.

Shenk, J.S. (1989). Equation selection. En: Near Infrared Reflectance Spectroscopy (NlRS): Analysis of forage quality. Marten *et al.* (Eds.), USDA HandBook nº 643, Washington, D.C., EEUU. pp.6.

Shenk, J.S. (1990). Standardizing NIRS instruments. En: Proceedings of the Third International Conference on Near Infrared Spectroscopy. Biston e Bartiaux-Thill (Eds.). Agricultural Research Centre Publishing, Gembloux, Belgium, pp. 649-654.

Shenk, J.S. (1992). NIRS analysis of natural agricultural products. En: Near Infrared Spectroscopy. Bridging the Gap between Data Analysis and NIR Applications. Hildrum *et al*. (Eds.), Ellis Horwood. London, Reino Unido, pp. 235-240.

Shenk, J.S. (1993). Analysis of undried, unground forage with a visible-near-infrared monochromator. Proceedings of the XVII International Grassland Congress, pp. 592-593.

Shenk, J.S.; Westerhaus, M.O.; Abrams, S.M. (1989). Near Infared Spectroscopy (NIRS): Analysis of forage quality. Marten *et al.* (Eds.). USDA. ARS. Agriculture Handbook N° 643, Washington, EEUU, pp. 104-110.

Shenk, J.S.; Abrams, S.M.; Wangsness, P.J.; Harpster, H.W. (1982). Predicting the feeding value of hay from chemical analyses and near infrared spectroscopy. *Agronomy Abstracts*, p. 153.

Shenk, J.S.; Mason, W.N.; Risius, M.L; Norris, K.L.; Barnes, R.F. (1976). Application of infrared reflectance analysis to feedstuff evaluation. En: Proceedings First

International Symposium on feed composition, animal nutrient requirements and computerization of diets, Fonnesheck *et al*. (Eds.), Utah Agr. Exp. Sta., Utah State University, Logan, EEUU. pp. 242-247.

Shenk, J.S.; Norris, K.H.; Barnes, R.F.; Fissel, G.W. (1977). Forage and feedstuff analysis with infrared reflectance. En: Proceedings of XIIth International Grassland Congress. Leipzig, Germany, pp. 455-464.

Shenk, J.S.; Westerhaus, M.O. (1991a). Population definition, sample selection, and calibration procedures for near infrared reflectance spectroscopy. *Crop Science*, 31, 469-474.

Shenk, J.S.; Westerhaus, M.O. (1991b). Population structuring of near infrared spectra and modified partial least squares regression. *Crop Science*, 31, 1548-1555.

Shenk, J.S.; Westerhaus, M.O. (1994) The application of near Infrared Reflectance Spectroscopy (NIRS) to forage analysis. En: Forage quality, Evaluation and Utilization, Fahey (Ed.), Soil Science Society of America/American Society of Agronomy/Crop Science Society of America, Madison, EEUU, pp. 406-449.

Shenk, J.S.; Westerhaus, M.O. (1995c). The application of near infrared reflectance Spectroscopy (NIRS) to forage analysis. En: Forage Quality, Evaluation, and Utilization. Fahey *et al*. (Eds.) A.S.A., C.S.S.A., S.S.S.A., Madison, WI., EEUU, pp. 406- 449.

Shenk, J.S.; Westerhaus, M.O. (1995a). Analysis of agricultural and food products by Near Infrared Reflectance Spectroscopy. Monograph. NIRSystems Inc., Silver Spring, MD, EEUU.

Shenk, J.S.; Westerhaus, M.O. (1995b). Routine operation, calibration, development and network system management manual. NIRS Systems, Inc, Silver Spring, MD, EEUU.

Shenk, J.S.; Westerhaus, M.O. (1996). Calibration the ISI way. En: Near Infrared Spectroscopy: the future waves. Proceedings of the 7th International Conference on Near Infrared Spectroscopy, Davies e Williams (Eds.). NIR Publications, Chichester, West Sussex, Reino Unido, pp. 198-202.

Shenk, J.S.; Westerhaus, M.O.; Workman, J.J. (1992). Application of NIR spectroscopy to agricultural products. En: Handbook of Near Infrared Analysis. Burns e Ciurczak (Eds.). Marcel Dekker, New York, EEUU. pp. 383-431.

Shenk, J.S.; Workman, J.J.; Westerhaus, M.O. (2001). Application of NIR spectroscopy to agricultural products. En: Handbook of Near Infrared Analysis. Burns e Ciurczak (Eds.). Marcel Dekker, New York, EEUU. pp. 419-474.

Sineiro, F.; Santiso, J.; Calcedo, V.; Lorenzana, R. (2009). El sector lácteo. Escenarios de evolución. I Premio Internacional COVAP, Octubre 2009. DOI: 10.13140/RG.2.1.4231.3761.

Sineiro, F; Lorenzana, R., Vázquez-González, I. (2012). Situación actual y cambios previstos en la estructura y en el sistema productivo de las explotaciones de leche en Galicia. *Pastos*, 42 (1), 67-92.

Sinnaeve, G.; Dardenne, P.; Agneessens, R.; Biston, R. (1994). The use of near infrared spectroscopy for the analysis of fresh grass silage. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, 2, 79-84.

Smith, K.F.; Flinn, P.C. (1991). Monitoring the performance of a broad-based calibration for measuring the nutritive value of two independent populations of pasture using near infrared reflectance (NIR) spectroscopy. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 31, 205-210.

Sniffen, C.J.; O'Connor, J.D.; Van Soest, P.J.; Fox, D.G.; Russell, J.B. (1992). A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. *Journal of Animal Science*, 70, 3562-3577.

Snyman, L.D.; Joubert, H.W. (1992). Near infrared reflectance analysis of the fermentation characteristics of silage prepared by chemical treatment to prevent volatilisation of fermentation end products. *Animal Feed Science and Technology*, 37, 47-58.

Snyman, L.D.; Jouvert, H.W. (1993). Prediction of the chemical composition and *in vitro* dry matter digestibility of a number of forages by near infrared reflectance spectroscopy. *South African Journal of Animal Science*, 23 (1), 20-23.

Soldado, A.; De La Roza-Delgado, B.; Martínez-Fernández, A.; Vicente, F.; López, L.; Díaz-Bueno, E. (2009). Predicción de la composición bromatológica en dietas completas: Clonación de instrumentos y transferencia de ecuaciones NIRS en producto intacto. En: Actas *XIII Jornadas sobre Producción Animal AIDA*, Joy *et al*. (Eds.), Zaragoza, España. pp. 340-342.

Sørensen, L.K. (2004). Prediction of fermentation parameters in grass and corn silage by Near Infrared Spectroscopy. *Journal of Dairy Science*, 87, 3826-3835.

Stalker, L.A.; Lorenz, B.G.; Ahern, N.A.; Klopfenstein, T.J. (2013). Inclusion of forage standards with known *in vivo* digestibility in *in vitro* procedures. *Livestock Science*, 151, 198-202.

Steen, R.W.J.; Gordon, F.J.; Dawson, L.E.R.; Park, R.S.; Mayne, C.S., Agnew, R.E.; Kilpatrick, D.J.; Porter, M.G. (1998). Factors affecting the intake of grass silage by cattle and prediction of silage intake. *Animal Science*, 66, 115-127.

Stergiadis, S.; Allen, M.; Chen, X.J.; Wills, D.; Yan, T. (2015). Prediction of nutrient digestibility and energy concentrations in fresh grass using nutrient composition. *Journal of Dairy Science*, 98 (5), 3257-3273.

Stern, M.; Endres, M. (1991). Laboratory manual: Research techniques in ruminant nutrition. Department of Animal Science. University of Minnesota. Minnesota, EEUU.

Stone, M. (1974). Cross-validation choice and assessment of statistical prediction. *Journal of the Royal Statistical Society Series B*, 39, 111-133.

Struik, P.C. (1983). Physiology of forage maize in relation to its production and quality. Doctoral thesis, Agricultural University Wageningen, Wageningen, the Netherlands, pp. 252.

Stuart, B.H. (2004). Infrared spectroscopy: Fundamentals and applications. University of Technology, Sydney, Australia. John Wiley e Sons, Ltd., Chichester, Reino Unido.

Stubbs, T.L.; Kennedy, A.C.; Fortuna, A.M. (2010). Using NIRS to predict fiber and nutrient content of dryland cereal cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry,* 58, 398-403.

Stuth, J.; Jama, A.; Tolleson, D. (2003). Direct and indirect means of predicting forage quality through near infrared reflectance spectroscopy. *Field Crops Research*, 84, 45-56.

Sutton, M.A.; Howard, C.M.; Erisman, J.W.; Bealey, W.J.; Billen, G.; Bleeker, A.; Bouwan, A.F.; Grennfelt, P.; van Grinsven, H.; Grizzetti, B. (2011). The challenge to integrate nitrogen science and policies: the European Nitrogen Assessment approach. En: Sutton *et al*. (Eds.), The European Nitrogen Assessment. Cambridge University Press, Cambridge, Reino Unido, pp. 82-96.

Swart, E.; Brand, T.S.; Engelbrecht, J. (2012). The use of near infrared spectroscopy (NIRS) to predict the chemical composition of feed samples used in ostrich total mixed rations. *South African Journal of Animal Science*, 42 (1), 550-554.

Swift, M.L. (2003). Prediction of dry matter, crude protein degradability and amino acid composition of corn silage and grass silage by near infrared reflectance spectroscopy. PhD Thesis. University of British Columbia, Vancouver, Canadá. 139 pp.

Tamminga, S. (1992). Nutrition management of dairy cows as a contribution to pollution control. *Journal of Dairy Science,* 75, 345-357.

Tamminga, S. (1996). A review on environmental impacts of nutritional strategies in ruminants. *Journal of Animal Science*, 74, 3112-3124.

Tilley, J.M.; Terry, R.A. (1963). A two-stage technique for the *in vitro* digestion of forage crops. *Journal of the British Grassland Society*, 18, 104-111.

Todorov, N.; Atanassova, S.; Pavlov, D.; Grigorov, R. (1994) Prediction of dry matter degradability of forages by near infrared Spectroscopy. *Livestock Production Science*, 39, 89-91.

Tomich,T.R.; Gonçalves, L.C.; Pinto-Tomich, R.G.; Santos-Rodrigues, J.A; Borges, I.; Rodriguez, N.M. (2004). Características químicas e digestibilidade *in vitro* de silagens de girassol. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 33 (6), 1672-1682.

Traxler, M.J.; Fox, D.G.; Van Soest, P.J.; Pell, A.N.; Lascano, C.E.; Lanna, D.P.D.; Moore, J.E.; Lana, R.P.; Vélez M.; Flores, A. (1998). Predicting forage indigestible NDF from lignin concentration. *Journal of Animal Science*, 76, 1469-1480.

Tyrrell, H. F.; Moe, P.W. (1975). Effect of intake on digestive efficiency. *Journal of the Dairy Science*, 58, 1151-1163.

Valdés, E.V.; Hunter, R.B.; Jones, E. (1987a). Comparison of near infrared calibrations for estimating *in vitro* digestibility in whole-plant corn hybrids. *The Canadian Veterinary Journal*, 67 (2), 557-562.

Valdés, E.V.; Hunter, R.B.; Pinter, L. (1987b). Determination of quality parameters by near infrared reflectance spectroscopy in whole-plant corn silage. *Canadian Journal of Plant Science*, 67, 747-754.

Valdés, E.V.; Jones, G.E.; Hoekstra, G.J. (1990). Effect of growing year and application of a multi-year calibration for predicting quality parameters by near infrared reflectance spectroscopy in whole-plant corn forage. *Canadian Journal of Plant Science*, 70, 747-755.

Valdez, F.R.; Harrison, J.H.; Deetz, D.A.; Fransen, S.C. (1988). *In vivo* digestibility of corn and sunflower intercropped as a silage crop. *Journal of Dairy Science*, 71 (7),1860-1867.

Valdez, F.R.; Harrison, J.H.; Fransen, S.C. (1988). Effect of feeding corn-sunflower silage on milk production, milk composition, and rumen fermentation of lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*,71 (9), 2462-2469.

Valiente, O.L.; Andueza, D.; de Vega, A.; Olmos, G.; Muñoz, F. (2004). The use of NIRS for prediction of intake, digestibility and diet composition in sheep fed mixed grain:roughage diets. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 13 (1), 227-230.

Valladares, J.; Pereira-Crespo, S.; Botana, A.; Resch, C.; Flores-Calvete, G. (2017). Efecto del cultivo de invierno sobre el comportamiento productivo del girasol utilizado para forraje y del conjunto de la rotación en secanos húmedos de la Galicia atlántica. En: Renaturalización vs. Ruralización (Rewilding vs. Re-farming). Bartolomé *et al*. (Eds.), Sociedad Española para el Estudio de los Pastos, Barcelona, España, pp. 84-89.

Van der Honig, Y. (1979). Utilisation of energy by dairy cows given diets based on maize silage. En: Production and utilization of the maize crop. Bunting (Ed.), Euromais 1979, Cambridge, Reino Unido, pp. 279-288.

Van der Koelen, C.J.; Van Es, A.J.H. (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.

Van der Meer, J.M. (1982). C.E.C. Workshop on methodology of feedingstuffs for ruminants. European *in vitro* Ring test. Instituut voor Veevoedingsonderzoek. The Netherlands, 28 pp.

Van Soest, P.J. (1963). Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. *Journal of the Association of Official Agricultural Chemists*, 46, 829-835.

Van Soest, P.J. (1967). Development of a comprehensive system of feed analyses and its application to forages. *Journal of Animal Science* 26, 119-128.

Van Soest, P.J. (1982). Nutritional ecology of the ruminant. Cornell University Press, Ithaca, New York, EEUU.

Van Soest, P.J. (1994) Nutritional Ecology of the Ruminant, Comstock Publishing Associates. Cornell University Press, Ithaca, New York, EEUU.

Van Soest, P.J.; Mertens, D.R.; Deinum, B. (1978). Preharvest factors influencing quality of conserved forage. *Journal of Animal Science*, 47, 712-720.

Van Soest, P.J.; Mertens, P. (1977). Analytical parameters as guides to forage quality. En: Proceedings International Meeting on animal production from temperate grasslands. Gilseman (Ed.). Irish Grassland and Animal Production Association. Dublin, Ireland. pp 50-52.

Van Soest, P.J.; Robertson, J.B.; Lewis, B.A. (1991). Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74 (10), 3583-3597.

Vanzant, E.S.; Cochran, R.C.; Titgemeyer, E.C. (1998). Standardization of *in situ* techniques for ruminant feedstuff evaluation. *Journal of Animal Science*, 76, 2717-2729.

Vázquez de Aldana, B.R.; García-Criado, B.; García-Ciudad, A.; Pérez-Corona, M.E. (1996). Non-Destructive method for determining ash content in pasture samples: application of near infrared reflectance spectroscopy. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 27 (3/4), 795-802.

Veiga, M. (2019). Leguminosas pratenses en sistemas de baixo input en Galicia: Efecto sobre a produción e o perfil de ácidos graxos do leite de vacún. Tese Doutoral. Escola Politécnica Superior de Lugo. Universidade de Santiago de Compostela. 222 pp.

Veiga, M.; Botana, A.; Resch, C.; Pereira-Crespo, S.; Dagnac, T.; Valladares, J.; Díaz, N.; Fernández-Lorenzo, B.; Flores-Calvete, G. (2016). Comparación de una mezcla de tréboles anuales con raigrás inglés en un sistema de pastoreo con vacas de leche. En: Báez Bernal *et al*. (Eds.). Innovación Sostenible en Pastos: Hacia una Agricultura de Respuesta al Cambio Climático. Sociedad Española para el Estudio de los Pastos. Lugo-A Coruña, España, pp.235-240.

Verité, R.; Michalet-Doreau, B.; Chapoutot, P.; Peyraud, J.L.; Poncet, C. (1987). Révision du système des protéines digestibles dans l' intestin (PDI). *Bulletin Technique Centre de Recherches Zootechniques et Veterinaires de Theix* (INRA), 70, 19-34.

Vermorel, M. (1978). Énergie. En: Alimentation des ruminants. Jarrige, R. (Ed.), INRA Publications, Versailles, Francia.

Villamarín, B.; Fernández, E.; Mendéz, J. (2002). Analysis of grass silage from Northwestern Spain by Near-Infrared Reflectance Spectroscopy. *Journal of AOAC International*, 85, 541-545.

Von Keyserlingk, M.A.G.; Swift, M.L.; Puchala, R., Shelford J.A. (1996). Degradability characteristics of dry matter and crude protein of forages in ruminants. *Animal Feed Science and Technology*, 57, 291-311.

Vranić, M.;. Bošnjak, K; Glavanović, S.; Leto, J.; Lukšić, B. (2016). Prediction of dry matter yield from seminatural grassland by nir spectroscopy. *Stočarstvo*, 70 (1), 3-12.

Waters, C.J.; Givens, D.I. (1992). Nitrogen degradability of fresh herbage: effect of maturity and growth type, and prediction from chemical composition and by near infrared reflectance spectroscopy. *Animal Feed Science and Technology*, 38, 335-349.

Weimer, P.J. (2015). Redundancy, resilience, and host specificity of the ruminal microbiota: implications for engineering improved ruminal fermentations. *Frontiers in Microbiology*, 6, Article 296, 1-16.

Weisbjerg, M.R.; Bhargava, P.K.; Hvelplund, T.; Madsen, J. (1990). Use of degradation profiles in feed evaluation. *Beretning fra Statens Husdyrbrugsforseg*, 679, 33. Citado en: Weiss, W.P. (2006). Assessing and adjusting the energy value of feeds. *Advances in Dairy Technology*, 18, 69-78.

Weiss, W. P. (1994). Estimation of the digestibility of forages by laboratory methods. En: Forage Quality, Evaluation and Utilisation. Fahey (Ed.), American Society of Agronomy, Inc.; Crop Science Society of America, Inc. e Soil Science Society of America, Inc. Madison, Wisconsin, EEUU, pp. 644-681.

Weiss, W.P. (1993). Predicting energy values of feeds. *Journal of Dairy Science*, 76, 1802-1811.

Weiss, W.P. (2006). Assessing and adjusting the energy value of feeds. *Advances in Dairy Technology*, 18, 69-78.

Weller, R.F.; Jones, E.L. (2002). An overview on the role and potential of forage production on lowland organic livestock farms. En: UK Organic Research 2002: Proceedings of the COR Conference, Powell *et al*. (Eds.), Organic Centre Wales, Institute of Rural Studies, University of Wales, Aberystwyth, pp. 81-84.

Westerhaus, M.O. (1989). Interpretation of regression statistics. En: Near Infrared Reflectance Spectroscopy (NlRS): Analysis of Forage Quality. Marten *et al*. (Eds.). USDA HandBook nº 643, Washington, D.C., EEUU, p. 40.

Wiersma, D.W.; Carter P.R.; Albrecht, K.A.; Coors, J.G. (1993). Kernel milk line stage and corn forage yield, quality, and dry matter content. Journal of Production Agriculture, 6, 94-99.

Wilkins, R.J. (1969). The potencial digestibility of cellulose in forage and faeces. *Journal of Agriculture Science*, 73, 57-64.

Wilkins, R.J. (ed), 2001. Legume silages for Animal Production. Results of LEGSIL project (FAIR CT96-1832). IGER, North Wyke, Okehampton, Reino Unido, 17 pp.

Wilkinson, J.M. (1979). Ensiling forage maize. En: *Production and utilization of the maize crop.* Bunting (Ed.) Euromais 1979, Cambridge, Reino Unido, pp. 229-244.

Williams, P.C. (2014). The RPD statistic: a tutorial note. NIR News, 25, 22-26.

Williams, P.C. (1987). Variables affecting near-infrared reflectance spectroscopic analysis. En: Near-infrared technology in the agricultural and food industries, Williams e Norris (Eds.). American Association of Cereal Chemists, Inc. St. Paul, Minnesota, EEUU, pp. 143-167.

Williams, P.C. (2001). Implementation of Near-Infrared technology. En: Near-infrared technology in the agricultural and food industries, Williams e. Norris (Eds.). American Association of Cereal Chemists, Inc. St. Paul, Minnesota, EEUU, pp 145-169.

Williams, P.C.; Norris, K.H. (1987). Near-infrared technology in the agricultural and food industries. American Association of Cereal Chemists, Inc. St. Paul, Minnesota, EEUU.

Williams, P.C.; Norris, K.H. (2001). Near-Infrared Technology in the Agricultural and Food Industries. American Association of Cereal Chemists, Inc. St. Paul, Minnesota, EEUU.

Williams, P.C.; Sobering, D.C. (1996). How do we do it: a brief summary of the methods we use in developing near infrared calibrations. En: Near Infrared Spectroscopy: The Future Waves. Davies e Williams (Eds.). NIR Publications, Chichester, Reino Unido, pp. 185-188.

Wilson, J.R. (1994). Cell wall characteristics in relation to forage digestion by ruminants. *Journal of Agricultural Science*, 122, 173-182.

Windham, W.R.; Coleman, S.W. (1989). Animal response prediction. En: Near Infrared Reflectance Spectroscopy (NlRS): Analysis of forage quality. Marten *et al*. (Eds.), USDA HandBook nº 643, Washington, D.C., EEUU, pp. 32-35.

Windham, W.R.; Hill N.S.; Stuedemann J.A. (1991). Ash in forage esophageal and fecal samples analyzed using near-infrared reflectance spectroscopy. *Crop Science*, 31, 1345-1349.

Windham, W.R.; Mertens, D.R.; Barton II, F.E. (1989). Protocol for NIRS calibration: sample selection and equation development and validation. En: Near Infrared Reflectance Spectroscopy (NlRS): Analysis of forage quality. Marten *et al.* (Eds.). USDA Hand Book nº 643, Washington, D.C., EEUU, pp. 96-103.

Wittkop, B.; Snowdon, R.J.; Friedt, W. (2012). New NIRS calibrations for fiber fractions reveal broad genetic variation in *Brassica napus* seed quality. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60, 2248-2256.

Woolford, M.K. (1984). The silage fermentation. Microbiological Series, 14, Marcel Dekker, Inc., Nueva York, EEUU, 350 pp.

Workman, J.Jr.; Shenk, J. (2004). Understanding and using the near-infrared spectrum as an analytical method. En: Near Infrared Spectroscopy in Agriculture. Roberts *et al*. (Eds.), American Society of Agronomy; Crop Science Society of America; Soil Science Society of America: Madison, WI, EEUU, pp. 3-10.

Xu, S.; Harrison, J.H.; Kezar, W.; Entrikin, N.; Loney, K.A.; Riley, R.E. (1995). Evaluation of yield, quality, and plant composition of early-maturing corn hybrids harvested at three stages of maturity. *The Professional Animal Scientist*, 11 (3), 157-165.

Yan, T.; Agnew, R. E. (2004). Prediction of nutritive values in grass silages: I. Nutrient digestibility and energy concentrations using nutrient compositions and fermentation characteristics. *Journal of Animal Science*, 82, 1367-1379.

Yan, T.; Agnew, R.E.; Gordon, F.J. (2002). The combined effects of animal species (sheep versus cattle) and level of feeding on digestible and metabolizable energy concentrations in grass silage based diets of cattle. *Animal Science*, 75, 141-151.

Yang, Z.; Nie, G.; Pan, L.; Zhang, Y.; Huang, L.; Ma, X.; Zhang, X. (2017). Development and validation of near-infrared spectroscopy for the prediction of forage quality parameters in *Lolium multiflorum*. PeerJ 5:e3867; DOI 10.7717/peerj.3867.

Zimmer, E.; Gurrath, P.A.; Paul, C.; Dhillon, B.S.; Pollmer, W.G., Klein, D. (1990). Near infrared reflectance spectroscopy analysis of digestibility traits of maize stover. *Euphytica*, 48, 73-81.

Znidaršic, T.; Verbic, J.; Babnik, D. (2006). Prediction of chemical composition and energy value of grass silage by near-infrared reflectance spectroscopy. *Journal of Central European Agriculture*, 7, 117-134.

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

CAMPUS
TERRA

A partir dunha base de datos de máis de catro mil mostras analizadas por métodos de referencia, se desenvolveron e validaron calibracións NIRS que permiten a predición, con alto grao de fiabilidade, da composición química e a dixestibilidade das principais forraxes utilizadas para a alimentación das vacas de leite de Galiza, da degradabilidade ruminal de ensilaxes de herba e de millo e dos parámetros fermentativos destas ensilaxes. As calibracións NIRS desenvolvidas están plenamente operativas con propósitos de axuda á investigacion e servizo analítico para a avaliación nutricional rápida e precisa das forraxes, facilitando o manexo xeral da base forraxeira das granxas e a optimización económica e ambiental das racións do gando vacún de leite.