

Artículo científico

Predicción del valor nutricional de sorgo para forraje mediante espectroscopia de reflectancia en el infrarrojo cercano (NIRS) y ecuaciones empíricas

Prediction of the nutritional value of sorghum for forage using near-infrared reflectance spectroscopy (NIRS) and empirical equations

SONIA PEREIRA-CRESPO¹, ADRIÁN BOTANA¹, MARCOS VEIGA¹, CÉSAR RESCH¹, LAURA GONZÁLEZ¹, ROBERTO LORENZANA², VALENTÍN GARCÍA-SOUTO¹, MARÍA DEL PILAR MARTÍNEZ-DIZ¹ Y GONZALO FLORES-CALVETE¹

¹Centro de Investigaciones Agrarias de Mabegondo (CIAM), Mabegondo, Abegondo, A Coruña, España. ciam.gal

²Laboratorio Interprofesional Galego de Análise do Leite (LIGAL), Mabegondo, Abegondo, A Coruña, España. ligal.gal

Resumen

En este trabajo se evalúa la capacidad de la tecnología NIRS para estimar la composición química (n=171) y la digestibilidad de la materia orgánica (n=71) de la planta entera de sorgo aprovechado para forraje y sus componentes morfológicos, y se desarrollan ecuaciones empíricas basadas en parámetros químicos para la estimación de la digestibilidad de la materia orgánica (DMO), comparando su capacidad predictiva con la obtenida mediante NIRS. Las calibraciones NIRS obtenidas para la predicción de todos los parámetros mostraron valores del coeficiente de determinación en validación externa (r^2) igual o superior a 0.90, indicando una alta confiabilidad. Asimismo, los valores de la relación entre la desviación estándar y el error de predicción (RPD) en validación externa fueron superiores a 3. La tecnología NIRS mostró una superioridad predictiva de la DMO, comparada con la mejor ecuación empírica, permitiendo reducir el error de predicción de validación externa, desde $\pm 3.9\%$ a $\pm 1.9\%$. Se concluye que las ecuaciones NIRS desarrolladas son una herramienta útil y precisa para la evaluación nutricional rápida y precisa de la planta entera de sorgo y sus componentes morfológicos.

Palabras clave: Composición química, digestibilidad, espectroscopia del infrarrojo cercano, modelos empíricos, *Sorghum bicolor*.

Abstract

In the present work studied the predictive ability of NIRS for the estimation of chemical composition (n = 171) and organic matter digestibility (n=71) of whole plant forage sorghum and morphological components, developed empirical equations based on chemical parameters to estimate the organic matter digestibility (OMD) values and compared the predictive ability of empirical models vs. NIRS equations. The predictive ability of NIRS models for estimating the OMD and chemical composition showed high reliability, according to the coefficient of determination in external validation ($r^2 \geq 0.90$), whilst the ratio of the standard deviation of the original data to standard error of external validation (RPD) values were higher than 3.0 for all parameters studied. Applying NIRS models to the prediction of OMD of whole plants and morphological components of forage sorghum led to the reduction in the standard error of external validation, in comparison with the best empirical model based on the chemical composition of samples (from ± 3.9 to $\pm 1.9\%$). It is concluded that the NIRS equations developed in the present work are valuable tools for the fast and accurate assessment of the nutritive value of the whole plant and components of forage sorghum.

Keywords: Chemical composition, digestibility, empirical models, near infrared spectroscopy, *Sorghum bicolor*.

Correspondencia: Sonia Pereira-Crespo, CIAM, 15318 Abegondo, A Coruña, España. Email: soniapereira@ciam.gal

Introducción

El ensilaje de maíz es el principal forraje conservado consumido en las explotaciones lecheras de Galicia (España), pues se estima que alrededor del 75 % de la producción de leche de la región procede de explotaciones donde el ensilaje de maíz constituye una parte importante o mayoritaria de la ración de las vacas lecheras (Flores et al. 2017). El clima predominante en la zona de producción de leche de Galicia es atlántico húmedo, aunque existen episodios relativamente frecuentes de sequías estacionales durante el verano, que pueden comprometer el rendimiento del maíz forrajero, especialmente en zonas con suelos arenosos o con escasa profundidad. El sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) es un cultivo que se caracteriza por la tolerancia a condiciones de escasez de agua y nutrientes (Farré y Faci 2006), por lo que se considera cada vez más una alternativa al maíz en esas áreas. La utilización de forrajes producidos en la propia explotación y la mejora de la eficiencia de su uso en la alimentación de las vacas es una de las principales claves del sector lácteo gallego para mantener su posición dentro de las 10 principales regiones lecheras de la Unión Europea (López-Iglesias 2015). Con este propósito, se requiere un sistema avanzado de análisis de la calidad del forraje que proporcione una evaluación rápida, económica y precisa.

La estimación del valor energético (energía metabolizable) se realiza habitualmente a partir del valor de la digestibilidad de la materia orgánica (DMO) (Dijkstra et al. 2005). Los estudios *in vivo* proporcionan los valores de referencia de la DMO de los alimentos para rumiantes, pero no son prácticos como análisis de rutina debido a su complejidad, duración y costo (Gosselink et al. 2004). Los métodos alternativos para evaluar en la práctica el valor energético de los forrajes incluyen el uso de ecuaciones empíricas basadas en parámetros químicos, técnicas de digestión *in vitro* y espectroscopia de reflectancia del infrarrojo cercano (NIRS) (Gosselink et al. 2004; Pereira-Crespo et al. 2022a, 2022b).

El objetivo de este estudio fue evaluar la capacidad de la tecnología NIRS para estimar la composición química y DMO de la planta entera y los componentes morfológicos de sorgo forrajero cultivado en Galicia, y desarrollar ecuaciones empíricas basadas en parámetros químicos para la estimación de la DMO, comparando su capacidad predictiva con la obtenida por NIRS.

Materiales y Métodos

Material vegetal

El colectivo de muestras de sorgo en estado fresco proviene de diferentes trabajos realizados por el Centro de Investigaciones Agrarias de Mabegondo (CIAM) desde 2012 hasta 2018 en las localidades gallegas de Mabegondo (A Coruña) y Pobra do Brollón (Lugo), que incluían diferentes variedades (de grano y forrajeras, así como bmr) y distintos estados fenológicos, desde estado vegetativo hasta grano pastoso. La colección está constituida por 171 muestras (120, 28 y 23 muestras de planta entera, parte vegetativa e inflorescencia, respectivamente).

Métodos analíticos de referencia

La preparación de las muestras para las posteriores determinaciones por vía húmeda se realizó mediante secado en estufa de aire forzado (Unitherm, Russell-Lindsey Engineering, Birmingham, England) a 80 °C durante 16 h. Las muestras fueron posteriormente molidas a 1 mm en un molino de martillos (Christy y Norris Ltd., Chelmsford, England). Los resultados se expresaron en porcentaje sobre MS corregida por humedad residual. La determinación del contenido en materia orgánica (MO), proteína bruta (PB) y almidón (ALM) se realizó según Horwitz y Latimer (2010), y los contenidos en fibra neutro detergente (FND), fibra ácido detergente (FAD) y hemicelulosa (HCEL) se realizaron siguiendo la metodología de Goering y Van Soest (1970). Los contenidos en carbohidratos solubles en agua (CSA) y no estructurales (CNET) se determinaron según Castro (2000).

Determinación de la digestibilidad

La determinación de la digestibilidad *in vivo* se realizó mediante evaluaciones con un mínimo de cinco ovinos machos castrados de más de dos años de edad, de raza Gallega, alojados en jaulas metabólicas dotadas de separadores de heces y orina. El nivel de alimentación fue *ad libitum*, ajustándose la oferta para permitir un 10 % de rechazos. El procedimiento de las evaluaciones *in vivo* se realizó siguiendo la metodología indicada en Pereira-Crespo et al. (2022a, 2022b). La digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica fue determinada siguiendo el método descrito por Tilley y Terry (1963) modificado por Alexander y McGowan (1966), utilizando como

animales donantes de inóculo ruminal dos vacas secas canuladas en el rumen alimentadas según lo indicado en Pereira-Crespo et al. (2022b). Con la finalidad de controlar la variabilidad entre series de análisis sucesivas, los resultados de digestibilidad *in vitro* se corrigieron utilizando un conjunto de cuatro muestras de referencia cuya digestibilidad *in vivo* era conocida, colocados por duplicado al inicio, mitad y al final de cada serie. La corrección se ajustó según lo indicado por Pereira-Crespo et al. (2022a, 2022b).

Del total de muestras utilizadas con DMO conocida, cinco (n=5) provenían de ensayos *in vivo* y las restantes (n=66) de ensayos *in vitro*.

Error estándar de los métodos de referencia

Para evaluar los resultados de las calibraciones NIRS en relación al error del método de referencia, se calculó el error estándar del método de referencia (*SEL*) para cada parámetro, realizado a partir de la varianza entre replicados de la misma muestra. Los valores de *SEL* de los métodos de referencia del presente trabajo figuran en la Tabla 1.

Tabla 1. Error estándar del método de referencia para la determinación de la composición química y digestibilidad.

Parámetro	Media	<i>SEL</i>	<i>CV</i>
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
CSA	13.09	0.92	7.08
CNET	17.43	0.88	5.06
ALM	17.37	1.57	9.04
Digestibilidad (%)			
DMOTT	64.77	1.94	3.00
DMO <i>in vivo</i>	66.83	2.33	3.49

SEL = error estándar de laboratorio; *CV* = coeficiente de variación; MS = materia seca (%); MO = materia orgánica; PB = proteína bruta; FND = fibra neutro detergente; FAD = fibra ácido detergente; CSA = carbohidratos solubles en agua; CNET = carbohidratos no estructurales; ALM = almidón; DMOTT = digestibilidad de la MO *in vitro* método Tilley-Terry; DMO = digestibilidad de la MO.

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

Para la colección de muestras de las que se disponía valores de DMO (n=71) se desarrollaron ecuaciones de regresión

basadas en parámetros químicos, persiguiendo el objetivo de establecer una base de comparación de la capacidad predictiva de este modelo y el obtenido mediante la tecnología NIRS, aplicada a la estimación del valor nutricional de planta entera de sorgo y sus componentes morfológicos (hojas + tallos e inflorescencias).

Se examinaron las relaciones entre los valores de DMO y las determinaciones de laboratorio mediante análisis de correlación y de regresión lineal simple y múltiple, acompañada de un proceso de regresión paso a paso, siendo seleccionados los mejores modelos uni y multivariantes en cuanto a porcentaje de varianza explicada de la variable dependiente. Los procedimientos utilizados fueron CORR, STEPWISE, GLM y REG del paquete estadístico SAS v. 9.4 (SAS Institute 2012). En la construcción de los modelos predictivos se utilizó el método “*leave one out*” (Massart et al. 1997), un proceso secuencial de validación cruzada, en el cual del conjunto de calibración era excluida secuencialmente una de las muestras, sobre la que se realizó la validación de la predicción a partir del modelo de calibración generado, repitiendo el proceso un número de veces igual al número total de muestras. Se computó el error estándar de validación cruzada (*SECV*) a partir de los errores de estimación (e_i = diferencia entre el valor observado y el predicho por el modelo) de las muestras del conjunto de validación como

$$SECV = \sqrt{\frac{\sum e_i^2}{n-1}},$$

siendo n el número total de muestras. Los modelos con un porcentaje de varianza explicada en validación cruzada inferior al 20 % fueron excluidos, así como aquellos que incluían como predictores variables con un elevado grado de colinealidad, dado su efecto negativo en la estabilidad de los coeficientes de los modelos de regresión, siendo aquel estimado a través de las herramientas de diagnóstico del procedimiento REG de SAS. Los modelos de predicción de DMO fueron objeto de validación externa. A tal efecto, ordenadas las muestras de la colección por su valor de digestibilidad, cada quinta muestra se asignó al grupo de validación independiente, siendo construido el modelo predictivo sobre los cuatro quintos restantes. El valor del error de predicción (*SEP*) se calculó como el error estándar de la diferencia entre los valores observados y predichos, y el valor del bias como el valor medio de la diferencia entre los valores observados y predichos, siendo obtenido el coeficiente de determinación en validación externa (r^2) a partir de la regresión lineal entre los valores observados y los predichos.

Análisis e instrumentación NIRS

La información espectral de las muestras se registró en un espectrofotómetro monocromador de espectro continuo Foss NIRSystem 6500 (Silver Spring, Washington, USA), situado en una sala con temperatura controlada (24 ± 1 °C). El instrumento estaba dotado de un módulo de giro y realiza medidas de reflectancia (R) en la región espectral comprendida entre 1100 nm y 2500 nm. Las muestras secas y molidas se analizaron por duplicado como $\log(1/R)$. La adquisición de la información espectral y el análisis quimiométrico de los datos se realizó mediante el software WinISI II v.1.5 (Infrasoft International 2000, Port Matilda, PA, USA).

Tratamiento quimiométrico de los datos espectrales

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

Los pretratamientos espectrales evaluados fueron: SNV (*Standard normal variate*); DT (*Detrend*), la combinación de ambos (SNV+D) ([Barnes et al., 1989](#)) y W-MSC (*Weighted multiplicative scatter correction*; [Shenk y Westerhaus 1993](#)), combinados con derivadas como: 1,4,4,1; 1,5,5,1; 1,6,4,1; 1,8,4,1; 1,10,5,1; 1,10,10,1; 2,4,4,1; 2,5,5,1; 2,6,4,1; 2,8,4,1; 2,10,5,1; 2,10,10,1; donde el primer dígito expresa el orden de la derivada (1=primera derivada, 2=segunda derivada), el segundo dígito indica el tamaño del segmento sobre el cual se realiza la derivación (intervalo expresado en nanómetros) y el tercero y cuarto dígito indican el tamaño de los intervalos, expresados en nanómetros, utilizados para el cálculo de suavización de la derivada ([Shenk y Westerhaus 1994](#)). El colectivo de espectros se dividió de forma aleatoria ([Shenk y Westerhaus 1991](#)) en un grupo de calibración al que se destinaron el 75 % de las muestras seleccionadas aleatoriamente, siendo el resto de las muestras asignando a un segundo grupo de validación independiente (externa)

que contenía el 25 % de las muestras totales, estando representados en ambos grupos los 3 tipos de muestras (planta entera, parte vegetativa e inflorescencia).

Las ecuaciones de calibración se realizaron a través de regresión de mínimos cuadrados parciales modificada (MPLS, [Martens y Næs 1987](#)) entre los datos espectrales y los valores de referencia, aplicándose el procedimiento de validación cruzada para determinar el número óptimo de términos de la ecuación. Se incluyeron cuatro grupos de validación cruzada para prevenir el sobreajuste, que fueron secuencialmente utilizados para efectuar la validación de las ecuaciones generadas. Además, durante el proceso de desarrollo de cada ecuación de calibración se aplicaron como máximo 2 etapas de eliminación de anómalos químicos ($T > 2.5$; [Mark y Workman 2003](#)). La selección de las mejores ecuaciones de calibración NIRS se realizó en base al menor valor del error estándar validación cruzada (*SECV*) y al mayor valor del coeficiente de determinación en validación cruzada ($1 - VR$; [Shenk y Westerhaus 1996](#)).

Resultados

Ecuaciones empíricas para la predicción de DMO

Valores medios de la colección. En la Tabla 2 se puede observar la media, desviación típica, coeficiente de variación y rango de valores para la composición química y DMO del colectivo total de muestras ($n = 71$) de las que se disponía el valor de referencia de DMO. Las muestras de planta entera constituían el 70 % del total, repartiéndose el resto entre muestras de inflorescencia (panícula) y parte vegetativa (plantas desprovistas de inflorescencia).

Los contenidos medios (y rango de variación) en % MS fueron, 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) y CSA: 12.7 (2.7 a 27.4). El valor medio de DMO fue 63.2 %, oscilando los valores mínimo y máximo entre 53.8 y 77.6 %. Los contenidos en ALM, CSA, CNET y PB fueron los parámetros de mayor variabilidad, con valores del coeficiente de variación de 111.1 %, 55.4 %, 37.6 %, y 32.1 %, respectivamente, mientras que la concentración de MO fue el menos variable ($CV = 1.8$ %), siendo intermedia la de las distintas fracciones de la fibra, con valores de CV de 13.8 % para FND, 14.0 % para FAD y 15.3 % para HCEL. La variabilidad de la DMO con un valor del CV de 10.3 % se situó a un nivel inferior de la observada para los parámetros de composición química, a excepción del contenido en materia orgánica.

Tabla 2. Composición química y digestibilidad de la colección de muestras de planta entera de sorgo y sus componentes morfológicos, utilizadas para la obtención de las ecuaciones empíricas.

Parámetro	n	Media	SD	CV	Min	Max
MO	71	94.2	1.7	1.8	88.6	97.4
PB	71	7.6	2.4	32.1	3.5	16.2
FND	71	60.3	8.3	13.8	37.2	79.2
FAD	71	31.1	4.3	14.0	16.2	39.1
HCEL	71	29.1	4.5	15.3	19.9	40.2
ALM	71	8.9	9.9	111.1	0.0	45.4
CNET	71	23.8	8.9	37.6	9.1	55.6
CSA	71	12.7	7.0	55.4	2.7	27.4
DMO	71	63.2	6.5	10.3	53.8	77.6

MS = materia seca; MO = materia orgánica (%MS); PB = proteína bruta; FND = fibra neutro detergente (%MS); FAD = fibra ácido detergente (%MS); HCEL = hemicelulosa (%MS); ALM = almidón (%MS); CNET = carbohidratos no estructurales (%MS); CSA = carbohidratos solubles (%MS); DMO = digestibilidad de la MO; n = número de muestras; SD = desviación estándar; CV = coeficiente de variación; Max = valor máximo; Min = valor mínimo.

Tabla 3. Matriz de correlaciones entre parámetros de composición química y digestibilidad de la materia orgánica de la colección de planta entera de sorgo y sus componentes morfológicos.

		PB	FND	FAD	HCEL	ALM	CNET	CSA	DMO
MO	<i>r</i>	-0.61	-0.55	-0.51	-0.53	0.28	0.69	0.53	0.47
	<i>p</i>	***	***	***	***	*	***	***	***
PB	<i>r</i>	-	0.22	-0.02	0.43	0.17	-0.37	-0.71	-0.17
	<i>p</i>		NS	NS	***	NS	**	***	NS
FND	<i>r</i>	-	-	0.94	0.94	-0.78	-0.94	-0.10	-0.47
	<i>p</i>			***	***	***	***	NS	***
FAD	<i>r</i>	-	-	-	0.77	-0.82	-0.89	0.06	-0.49
	<i>p</i>				***	***	***	NS	***
HCEL	<i>r</i>	-	-	-	-	-0.65	-0.88	-0.25	-0.39
	<i>p</i>					***	***	*	***
ALM	<i>r</i>	-	-	-	-	-	0.72	-0.49	0.09
	<i>p</i>						***	***	NS
CNET	<i>r</i>	-	-	-	-	-	-	0.20	0.46
	<i>p</i>							NS	***
CSA	<i>r</i>	-	-	-	-	-	-	-	0.48
	<i>p</i>								***

MS = materia seca; MO = materia orgánica (%MS); PB = proteína bruta (%MS); FND = fibra neutro detergente (%MS); FAD = fibra ácido detergente (%MS); HCEL = hemicelulosa (%MS); ALM = almidón; CNET = carbohidratos no estructurales; CSA = carbohidratos solubles; DMO = digestibilidad de la materia orgánica (%); *r* = coeficiente de correlación de Pearson; *p* = significación (***) $p < 0.001$; ** $p < 0.01$; * $p < 0.05$; NS $p > 0.05$: no significativo).

Correlaciones entre composición química y digestibilidad.

La matriz de correlaciones entre los parámetros de composición química y la digestibilidad de la materia orgánica se muestra en la Tabla 3. Fue observada una correlación negativa moderada pero significativa ($p < 0.001$) entre los valores de DMO y las distintas fracciones de fibra, con valores del coeficiente de correlación *r* de -0.47 para FND, de -0.49 para FAD, y de -0.39 para HCEL. También se observó una correlación aproximadamente de la misma magnitud, pero de signo positivo, entre el valor de DMO y el de materia orgánica y la concentración de carbohidratos no estructurales, con valores de *r* de 0.47 para MO, de 0.46 para CNET y de 0.48 para CSA. El coeficiente de correlación entre DMO y los contenidos en proteína y almidón fue muy bajo y no alcanzó significación.

Destaca la alta correlación negativa entre los valores de carbohidratos estructurales y no estructurales (valores de *r* de -0.94, -0.89 y -0.88 entre CNET con FND, FAD y HCEL, respectivamente) reflejando parcialmente el resultado del proceso de maduración de la planta, donde la proporción de la fracción fibra en la MS tiende a reducirse con el incremento la acumulación de azúcares y almidón en la planta.

Ecuaciones de predicción de DMO basadas en parámetros químicos. Las ecuaciones de regresión seleccionadas, así como los estadísticos de calibración y de validación cruzada y externa se muestran en la Tabla 4, estando aquellas ordenadas de mayor a menor por el porcentaje de la varianza explicada en calibración. Las ecuaciones de predicción de la digestibilidad de la materia orgánica basadas en análisis químicos de la población de muestras de planta entera de sorgo y sus fracciones mostraron una moderada capacidad predictiva. Los dos mejores modelos de dos variables, que incluyeron FAD y CSA o FAD y ALM como predictores, explicaron en validación cruzada el 56 % y el 47 % de la varianza con un error estándar de validación cruzada de ± 4.29 % y ± 4.78 %, respectivamente. La eliminación de CSA o ALM de la ecuación redujo el porcentaje de varianza explicada hasta el 34 % y aumentó el error hasta ± 5.01 % para el modelo univariable con FAD como único predictor.

En validación externa, el ajuste de las ecuaciones empeoró notablemente, con valores de r^2 y de *SEP* de 0.44 y ± 5.74 % y de 0.40 y ± 5.51 % para las ecuaciones con dos variables y de 0.21 y ± 6.14 % para la ecuación univariable con FAD como único predictor. Los valores de los estadísticos RPD_{ve} y RER_{ve} en validación externa oscilaron entre 1.17 y 1.05 para el primero y entre 4.3 y 3.8 para el segundo. Atendiendo a los criterios que juzgan la calidad de las ecuaciones en base a estos valores (Williams 2014), los valores de *RPD* inferiores a 1.5 indican que el modelo no sería de utilidad para

la predicción de muestras independientes, el que sería coincidente con el criterio de Shenk et al. (2001) que sitúan un umbral de 0.60 en el valor mínimo del coeficiente de determinación en validación externa para que el modelo pueda ser usado de forma fiable en la estimación de muestras problema.

Ecuaciones NIRS para predicción de la composición química y DMO

Las características descriptivas de los parámetros de composición química y DMO del colectivo de calibración ($n = 126$) y validación externa ($n = 45$) para el desarrollo de modelos de predicción NIRS se muestran en la Tabla 5. La composición química media (y rango de variación) de las muestras de calibración y validación expresadas en %MS, fueron, respectivamente, MO: 94.5 (83.7 a 97.9) y 94.1 (89.1 a 97.9), PB: 8.9 (3.5 a 21.1) y 9.4 (3.8 a 20.2), FND: 57.5 (28.4 a 79.2) y 58.4 (30.0 a 78.7), FAD: 29.4 (12.0 a 39.5) y 29.5 (13.8 a 38.5), CNET: 25.2 (4.7 a 65.3) y 24.1 (4.3 a 62.6), CSA: 11.8 (1.5 a 27.4) y 10.9 (1.3 a 24.5) y ALM: 11.0 (0.0 a 56.2) y 10.5 (0.0 a 54.4). Los valores medios de digestibilidad de la materia orgánica fueron 63.3 % y 62.4 % para la colección de calibración y validación, respectivamente, con rangos de variación de 55.1 a 77.6 % para el primer grupo y de 53.8 a 73.5 % para el segundo. Se observa un amplio intervalo de variabilidad para todos los parámetros, tanto en el colectivo de calibración como en el de validación

Tabla 4. Ecuaciones de predicción de la digestibilidad de la materia orgánica en base a parámetros químicos de la colección total (planta entera y sus componentes morfológicos) de sorgo.

	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×CSA	0.59	4.18	0.56	4.29	0.44	5.74	5.53	-1.508	0.79
<i>s.e</i>	± 1.03	± 0.398	± 0.0125									
<i>P</i>	***	***	***	***		***		***				
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	0.75
<i>s.e</i>	± 7.28	± 0.211	± 0.093									
<i>P</i>	***	***	***	***		***		***				
DMO =	86.20	-0.74 FAD		0.38	4.88	0.34	5.01	0.21	6.14	6.09	0.795	0.80
<i>s.e</i>	± 4.92	± 0.156										
<i>P</i>	***	***		***		***		NS				

DMO = digestibilidad de la materia orgánica (%); CSA = carbohidratos solubles en agua (%MS); FAD = fibra ácido detergente (%MS); ALM = almidón (%MS); *s.e* = error estándar; *P* = significación (*** $P < 0.001$; ** $P < 0.01$; * $P < 0.05$; NS no significativo $P > 0.05$); R² = coeficiente de determinación del modelo de calibración; SEC = error estándar de calibración; 1-VR = coeficiente de determinación en validación cruzada; SECV = error estándar de validación cruzada; r² = coeficiente de determinación en validación externa; SEP = error estándar de predicción; SEPC = error estándar de predicción corregido por bias; Bias = diferencia media entre los valores observados y los predichos por la ecuación; Pend = pendiente de la regresión entre valores observados y predichos por la ecuación.

Tabla 5. Estadísticos de calibración y validación cruzada de las ecuaciones NIRS para estimación de la composición química y de la digestibilidad de la materia orgánica de muestras de planta entera de sorgo y sus componentes morfológicos.

Parámetro	Scatter	MT	Calibración									Validación cruzada			
			n	Outliers	T	Media	SD	Min	Max	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	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	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	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	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	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	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	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	0.94	1.64	0.92	1.93	3.6	11.7

Parámetro	Validación externa											
	n	Media	SD	Min	Max	r ²	SEP	SEPC	Bias	Pendiente	RPDve	RERve
MO	45	94.1	2.1	89.1	97.9	0.97	0.36	0.37	0.04	0.98	5.9	24.2
PB	45	9.4	4.0	3.8	20.2	0.99	0.31	0.31	-0.06	0.98	12.7	52.3
FND	45	58.4	9.9	30.0	78.7	0.98	1.35	1.35	-0.19	0.99	7.4	36.1
FAD	45	29.5	5.7	13.8	38.5	0.98	0.85	0.86	-0.07	1.02	6.6	28.9
CNET	45	24.1	13.3	4.3	62.6	0.99	1.18	1.00	0.08	1.00	11.3	49.4
CSA	45	10.9	6.4	1.3	24.5	0.99	0.72	0.67	0.25	0.98	8.9	32.5
ALM	45	10.5	14.5	0.0	54.4	0.99	1.36	1.37	-0.27	1.00	10.7	39.9
DMO	20	62.4	5.5	53.8	73.5	0.90	1.73	1.77	0.08	1.00	3.2	11.4

MT = tratamiento matemático; SNV+D = standard normal variate+detrend; n = número de observaciones; Outliers = número de muestras anómalas eliminadas; T = número de factores de la regresión; SD = desviación estándar; Min = valor mínimo; Max = valor máximo; SEC = error estándar de calibración; R² = coeficiente de determinación del modelo de calibración; 1-VR = coeficiente de determinación en validación cruzada; SECV = error estándar de validación cruzada; RPD = ratio entre la desviación estándar y el error de predicción en validación cruzada o externa; RER = ratio entre rango de valores y el error de predicción en validación cruzada o externa; r² = coeficiente de determinación en validación externa; SEP = error estándar de predicción; SEPC = error estándar de predicción corregido por bias; Bias = diferencia media entre los valores observados y los predichos por la ecuación; MS = materia seca; MO = materia orgánica (%MS); PB = proteína bruta (%MS); FND = fibra neutro detergente (%MS); FAD = fibra ácido detergente (%MS); CNET = carbohidratos no estructurales (%MS); CSA = carbohidratos solubles en agua (%MS); ALM = almidón (%MS); DMO = digestibilidad de la materia orgánica (%).

externa, confirmando la elevada diversidad de muestras incluidas en este producto, tanto muestras de planta entera de sorgo como de los diferentes componentes morfológicos que la conforman.

Las ecuaciones de predicción para todos los parámetros se obtuvieron con SNV+D como pretratamiento espectral para corregir el efecto de la dispersión de la luz o *scatter* debido a diferencias en el tamaño de partícula o de compresión de las muestras en la cápsula. Los mejores modelos para la predicción de la concentración de los carbohidratos no estructurales (CNET, CSA y ALM) se obtuvieron utilizando la primera derivada del espectro, mientras que para la estimación de los restantes parámetros (MO, PB, FND, FAD y DMO) las ecuaciones se vieron optimizadas mediante el uso de la segunda derivada. El número de muestras anómalas

eliminadas del conjunto de calibración respecto del número inicial de muestras osciló entre 5.1 y 3.9 % para las calibraciones NIRS de los parámetros químicos, siendo del 1.9 % para DMO.

Las calibraciones NIRS obtenidas para la predicción de todos los parámetros mostraron valores de los coeficientes de determinación iguales o superiores a 0.90. tanto en la etapa de validación cruzada (1-VR) como en la de validación externa (r²), indicando una calidad excelente, según lo indicado por Shenk et al. (2001). Las ecuaciones NIRS para la predicción de PB, CNET, CSA y ALM presentaron el mayor porcentaje de varianza explicada (99 %) en la etapa de validación externa, seguidos de las ecuaciones para estimar los contenidos en FND y FAD (98 %) y MO (97 %) así como el valor de DMO (90 %). Los valores de SECV y SEP fueron, respectivamente, de

± 0.38 y ± 0.36 % para MO, de ± 0.31 y ± 0.31 % para PB, de ± 1.44 y ± 1.35 % para FND, de ± 0.90 y ± 0.85 % para FAD, de ± 1.21 y ± 1.18 % para CNET, de ± 0.83 y ± 0.72 % para CSA, de ± 1.38 y ± 1.36 % para ALM, siendo de ± 1.93 y ± 1.73 % para DMO.

Los valores de los estadísticos *RPD* y *RER*, tanto en el proceso de validación cruzada como en el de validación externa, superan ampliamente los valores mínimos recomendados (3 para *RPD* y 10 para *RER*) por Williams y Sobering (1996) y Williams (2014), confirmando la buena capacidad de predicción cuantitativa de las ecuaciones y asegurando la validez de las mismas en la aplicación a futuras muestras independientes.

La representación gráfica de los valores de referencia y de los valores predichos por las ecuaciones NIRS obtenidos en la etapa de validación externa se muestra

en la Figura 1, donde se puede observar el buen ajuste obtenido por los modelos de predicción, los cuales cumplieron con los criterios indicados por Windham et al. (1989) y Shenk et al. (2001), relativos a los límites recomendados para que las ecuaciones se consideren fiables. A este respecto, los valores de la pendiente de regresión entre los valores observados y predichos, los del bias y los del SEPc estuvieron dentro de los intervalos recomendados por los citados autores (pendiente entre 0.9 y 1.1; bias = ± 0.60 SEC y SEPc < 1.30 SEC), mientras que los valores de r^2 de las ecuaciones para la estimación de los parámetros de composición química y DMO superaron ampliamente el valor límite de 0.60 mostrando el buen comportamiento predictivo de las ecuaciones NIRS para la predicción del valor nutricional de muestras de sorgo.

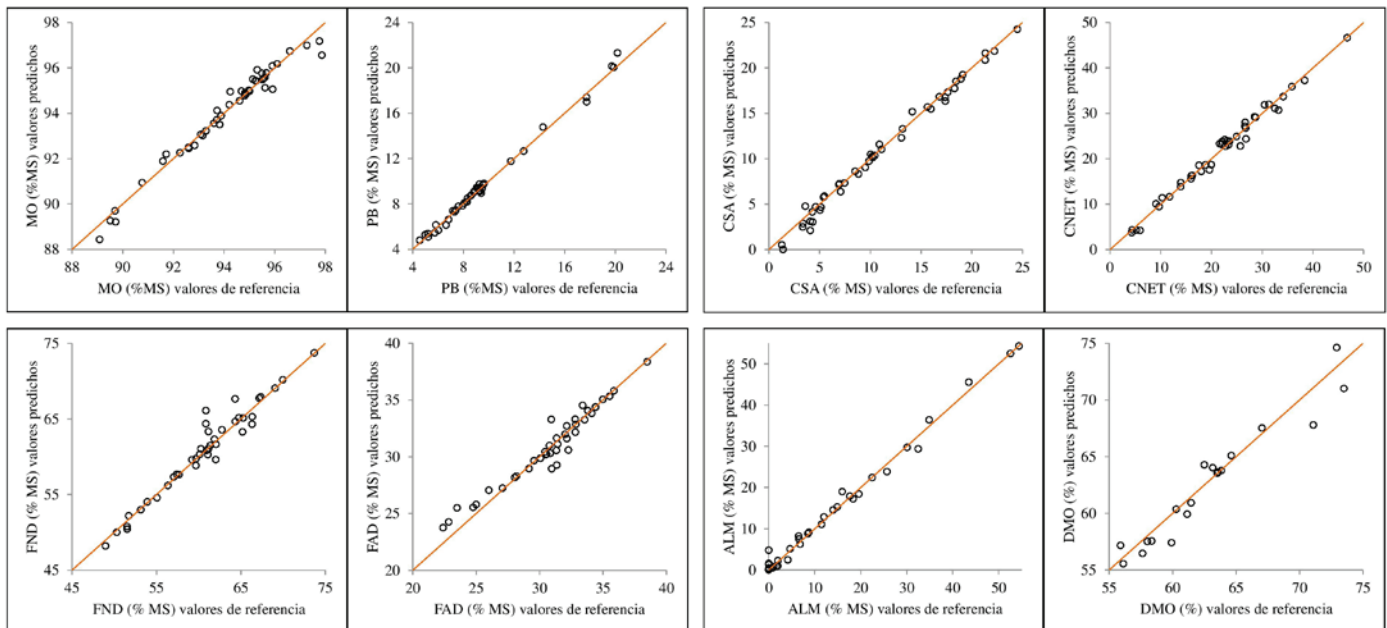


Figura 1. Plot de valores de composición química y digestibilidad determinados por los métodos de referencia y de valores predichos mediante las ecuaciones NIRS para muestras de planta entera de sorgo y sus componentes morfológicos.

Discusión

Los valores medios de composición química de la planta de sorgo forrajero indicados en las Tablas INRA (2010) entre los estados vegetativo y de grano lechoso son (en %MS) de 91.7 (88.4 a 94.1) para MO, de 11.8 (6.9 a 19.0) para PB, de 60.6 (55.7 a 60.7) para FND y de 35.3 (31.2 a 35.4) para FAD, siendo el valor medio de DMO (%) de 63.7, oscilando entre 71.0% para el estado vegetativo y 60.0% para el estado de grano lechoso.

En las Tablas FEDNA (Calsamiglia et al. 2016) se recoge un número limitado de valores para ensilados de sorgo, siendo los valores medios y rango de variación de la composición química (en %MS) de 9.0 (8.3 a 11.2) para PB, de 59.4 (57.1 a 61.3) para FND, y de 6.3 (3.5 a 9.7) para ALM. El valor medio de DMO indicado en las citadas Tablas es de 59.8%, con una oscilación entre 58.5 y 62.4%.

El rango de variación de la composición química de las muestras de planta de sorgo y sus componentes morfológicos utilizadas en el presente trabajo es más amplio que el indicado en las publicaciones 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 y de ALM entre 0 a 45.4, mientras que el de DMO varió entre 53.8 a 77.6%. La inclusión de muestras en la colección procedentes de diferentes genotipos de plantas de sorgo (incluidos los tipos *bmr*), diferentes localidades, años y estados de cosecha en la colección utilizada, unido a la presencia de muestras de fracciones de la planta (parte vegetativa e inflorescencia) junto con el de planta entera explican la mayor variabilidad observada en la población de muestras utilizada en el presente trabajo.

Heuzé et al. (2015) indican que a finales del estado vegetativo la DMO del sorgo en climas templados es de 70–71%, descendiendo hasta el 61% cuando la floración está completa y permaneciendo más o menos estable tras este estado. Los valores de DMO de planta entera de sorgo de este trabajo poseen un rango mayor (estado vegetativo: 75.3% - estado grano pastoso: 53.8%). En un trabajo realizado en el CIAM (Pereira-Crespo et al. 2018), para una variedad de sorgo forrajero y otra de maíz cultivados en un estudio en gran parcela y recogidos a los 125 días tras la siembra, que fueron evaluados in vivo en estado fresco se reportan valores muy semejantes de MO entre ambas especies, (97.0 y 97.6 %MS) siendo el sorgo algo más proteico y sobre todo más fibroso que el maíz (PB: 9.8 y 7.4 %MS; FAD: 30.7 y 19.7 %MS, FND: 56.2 y 38.3 %MS) con un contenido muy inferior de almidón (10.4 y 34.9 %MS) y mucho menos digestible (DMO *in vivo*: 58.3 y 70.1%).

Ecuaciones empíricas

Marten et al. (1975) estudiaron diversos métodos para la predicción de la DMO *in vivo* de ensilajes de maíz y de sorgo en base a una colección de 51 muestras de ambos forrajes. El mejor predictor de la DMO fue el contenido en FAD, con valores de R^2 de 0.80 y 0.61 para los ensilajes de sorgo y de maíz, respectivamente, no siendo útil la inclusión de PB para mejorar la capacidad predictiva de las ecuaciones. El método de la ecuación sumativa de Van Soest no proporcionó estimaciones satisfactorias de la digestibilidad del sorgo ni del maíz, si bien la concentración de lignina-permanganato explicó el 74% de la variación en DMO del sorgo pero solo el 23% en el caso del maíz. Esta observación coincide con lo indicado por Dickerson (1986), quien reporta un coeficiente de correlación de -0.88 para la planta de sorgo y de -0.51 para la planta de maíz entre el grado de lignificación de la FAD y la digestibilidad, señalando que el mayor descenso de digestibilidad de los sorgos forrajeros comparados con el maíz se atribuye al hecho de que en el sorgo se incrementa la lignina en la FAD con el avance de la madurez, mientras que en el maíz la relación LAD/FAD no cambia substancialmente con el tiempo, pasando del 10% en plantas a comienzo de la floración al 12% en plantas en estado maduro.

En el presente trabajo, las correlaciones observadas entre DMO y la composición química de las muestras son de escasa magnitud, con valores del coeficiente de correlación r de 0.47 con MO, de 0.48 con CSA y de -0.47 y -0.49 con FND y FAD, respectivamente. Por lo tanto, las ecuaciones empíricas obtenidas para la estimación de la DMO basadas en los contenidos en FAD y CSA o en FAD y ALM, son de un poder predictivo mediocre, con bajos valores del coeficiente de correlación en validación externa r^2 entre 0.44 y 0.40 y altos errores de predicción *SEP* de ± 5.74 y $\pm 5.51\%$, respectivamente.

Una limitación adicional de las ecuaciones basadas en FAD para predecir la digestibilidad del sorgo es que pueden subestimar el valor de las variedades *bmr* como indican Brouk y Bean (2011). En el citado trabajo de Pereira-Crespo et al. (2018) se indican valores medios de DMO de 61.5% y de 67.6% para variedades *bmr* y no *bmr*, respectivamente, sin diferencias apreciables en los contenidos en fibra, con valores medios de 32.2 y 33.1%MS para FAD y de 59.6 y 59.7 %MS para FND, respectivamente.

Ecuaciones NIRS para la estimación de la composición química y DMO

Los resultados de las calibraciones NIRS obtenidas

en este trabajo para la predicción de la composición química y el valor de DMO de las muestras de sorgo muestran una excelente calidad de las estimaciones, con valores de $r^2 \geq 0.90$ y $RPD_{vc} \geq 3.0$ en el proceso de validación externa de las ecuaciones sobre muestras independientes. Por otro lado, la capacidad predictiva de la DMO mediante calibraciones NIRS mostró una elevada superioridad en comparación con las ecuaciones empíricas. En la estimación de la digestibilidad de muestras independientes, la técnica NIRS permitió duplicar el porcentaje de varianza explicada por la mejor ecuación empírica, desde el 44% al 90% y reducir el error de predicción casi en un 70%, desde $\pm 5.74\%$ a $\pm 1.73\%$ unidades porcentuales de DMO.

En un trabajo con muestras de ensilajes de sorgo de Kansas (USA), Dubois et al. (1989) reportaron que la tecnología NIRS podía ser usada satisfactoriamente para predecir el contenido de PB, FAD y FND, reportando valores de r^2 y SEP , en validación externa, de 0.86 y $\pm 0.41\%$ para PB, de 0.86 y $\pm 1.75\%$ para FAD y de 0.92 y $\pm 1.83\%$ para FND. Sin embargo, los correspondientes valores de RPD_{vc} en este trabajo fueron de 1.9, 1.9 y 1.2 para las ecuaciones de predicción de PB, FAD y FND, respectivamente, lo que sugiere una escasa robustez de las ecuaciones, mostrando un poder predictivo bajo para los citados parámetros.

Es posible encontrar trabajos en los que la estimación del valor de DMO de la planta de sorgo mediante NIRS no es satisfactoria. Por ejemplo, Hicks et al. (2002) estudiaron la utilidad de la técnica para estimar el valor nutricional de líneas puras de sorgo granífero en el marco de trabajos de mejora genética, reportando que mientras la predicción del contenido en PB era realizada de forma precisa por NIRS, no era satisfactoria la predicción del valor de DMO *in vitro* de las muestras, con valores de RPD_{vc} en validación cruzada de 2.3 y 1.0, respectivamente. Sin embargo, dado el bajo valor medio reportado para DMO (38.9%), la escasa fiabilidad de la ecuación NIRS cabría atribuirle a la baja variabilidad de la colección para este parámetro.

Kański et al. (2013) estudiaron la utilidad de NIRS para estimar la digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica de ensilajes de sorgo a partir de una colección de 58 muestras que incluían ensilajes de planta entera de sorgo y mezclas con otras materias primas. El valor del coeficiente de determinación en calibración para la estimación de DMO fue de 0.83 y los de SEC y $SECV$, respectivamente, fueron de ± 4.4 y $\pm 4.8\%$, en tanto que el valor RPD_{vc} en validación cruzada fue de 2.4, concluyendo los autores que NIRS permite la predicción directa del valor DMO

de los ensilajes de sorgo, si bien en este trabajo no se realizó la prueba de validación externa. En un trabajo más reciente realizado en Argentina con una amplia colección de muestras de planta entera de sorgo y de maíz y de las diferentes fracciones morfológicas que las componen, Juan et al. (2016) reportaron una excelente capacidad predictiva de las calibraciones NIRS para la estimación de los contenidos en PB y FND y de la digestibilidad de la materia seca de las muestras con un alto valor de la varianza explicada en calibración (96–97%) y con valores del error estándar de predicción $SECV$ y de RPD_{vc} en validación cruzada de $\pm 0.54\%$ y 5.6 para PB, de $\pm 2.51\%$ y 5.0 para FND y de ± 1.4 y 5.1 para DMS.

Conclusiones

Las calibraciones NIRS obtenidas en el presente trabajo para la estimación de la composición química y el valor de DMO de planta entera de sorgo y sus componentes morfológicos mostraron una predicción cuantitativa satisfactoria y, por tanto, una alternativa rápida y precisa para determinar estos parámetros en relación a los métodos analíticos convencionales. La técnica NIRS mostró una capacidad predictiva de la DMO superior a las ecuaciones empíricas basadas en parámetros químicos.

Agradecimientos

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

Referencias

(Nota de los editores: Enlaces verificados el 8 de septiembre de 2022).

- Alexander RH; McGowan M. 1966. The routine determination of *in vitro* digestibility of organic matter in forages. *Grass and Forage Science* 21(2):140–147. doi: [10.1111/j.1365-2494.1966.tb00462.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2494.1966.tb00462.x)
- Barnes RJ; Dhanoa MS; Lister SJ. 1989. Standard normal variate transformation and detrending of near infrared diffuse reflectance spectra. *Applied Spectroscopy* 43(5):772–777. doi: [10.1366/0003702894202201](https://doi.org/10.1366/0003702894202201)
- Brouk MJ; Bean B. 2011. Sorghum in dairy production. Feeding guide. United Sorghum Checkoff Program, Lubbock, Texas, USA. bit.ly/3cOHXw7
- 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, p. 447–453.
- Dickerson JT. 1986. Yield, composition and nutritive value

- of forage sorghum silages: hybrid and stage of maturity effects. M.Sc. Thesis. Kansas State University, Manhattan, Kansas, USA. bit.ly/3RG6XVf
- Dijkstra J; Forbes JM; France J. 2005. Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism. CAB International, Wallingford, UK. doi: [10.1079/9780851998145.0000](https://doi.org/10.1079/9780851998145.0000)
- Dubois PC; Garcia G; Bolsen KK; Harbers LH. 1989. Near-infrared reflectance spectroscopy calibrations for sorghum silage. Kansas Agricultural Experiment Station Research Reports 0(1):90–93. doi: [10.4148/2378-5977.2296](https://doi.org/10.4148/2378-5977.2296)
- Farré I; Faci JM. 2006. Comparative response of maize (*Zea mays* L.) and sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) to deficit irrigation in a Mediterranean environment. Agricultural Water Management 83(1–2):135–143. doi: [10.1016/j.agwat.2005.11.001](https://doi.org/10.1016/j.agwat.2005.11.001)
- Calsamiglia S; Ferret A; Bach A. 2016. Tablas FEDNA de valor nutritivo de forrajes y subproductos fibrosos húmedos. Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal (FEDNA). Madrid, España. bit.ly/3BiPfsk
- Flores-Calvete G; Martínez-Fernández A; Doltra J; García-Rodríguez A; Eguinoa-Ancha P. 2017. Estructura y sistemas de alimentación de las explotaciones lecheras de Galicia, Cornisa Cantábrica y Navarra. INIA, Madrid, España. bit.ly/3d2H8A8
- Goering HK; Van Soest PJ. 1970. Forage fiber analysis (apparatus, reagents, procedures and some applications). Agriculture Handbook No. 379, USDA, Washington, DC, USA. bit.ly/3x3jMB3
- Gosselink JMJ; Dulphy JP; Poncet C; Jailler M; Tamminga S; Cone JW. 2004. Prediction of forage digestibility in ruminants using *in situ* and *in vitro* techniques. Animal Feed Science and Technology 115(3–4):227–246. [10.1016/j.anifeedsci.2004.01.008](https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2004.01.008)
- Heuzé V; Tran G; Giger-Reverdin S; Lebas F. 2015. *Sorghum forage*. Feedipedia, a programme by INRA, CIRAD, AFZ and FAO. feedipedia.org
- Hicks C; Tuinstra MR; Pedersen JF; Dowell FE; Kofoid KD. 2002. Genetic analysis of feed quality and seed weight of sorghum inbred lines and hybrids using analytical methods and NIRS. Euphytica 127(1):31–40. doi: [10.1023/A:1019943805514](https://doi.org/10.1023/A:1019943805514)
- Horwitz W; Latimer GW 2010. Official methods of analysis of AOAC International. En: Horwitz W, ed. 1997. Volume I, agricultural chemicals, contaminants, drugs. AOAC International, Gaithersburg, MD, USA.
- INRA. 2010. Alimentation des bovins, ovins et caprins. Besoins des animaux-Valeurs des aliments. Tables INRA 2007. Institut National de la Recherche Agronomique, (INRA) Éditions Quae, Versailles, France. bit.ly/3Bg3ck2
- Juan NA; Ortiz DA; Pordomingo AB; Funaro DO. 2016. Tecnología NIRS para estimar el valor nutritivo de planta entera de maíz y sorgo para silaje y sus fracciones (tallos, hoja, panoja/espiga). Revista de la Asociación Argentina de Producción Animal 36:230. hdl.handle.net/20.500.12123/771
- Kański J; Pyś JB; 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(4):360–365. doi: [10.22358/jafs/65928/2013](https://doi.org/10.22358/jafs/65928/2013)
- López-Iglesias E. 2015. O complexo lácteo galego nun mercado liberalizado. Estratexias e políticas ante a desaparición do sistema de cotas na UE. Documento 13/2015. Foro Económico de Galicia, Ourense, España.
- Mark H; Workman J. 2003. Statistics in Spectroscopy. Academic Press, Amsterdam, The Netherlands. doi: [10.1016/B978-0-12-472531-7.X5040-9](https://doi.org/10.1016/B978-0-12-472531-7.X5040-9)
- Marten GC; Goodrich RD; Schmid AR; Meiske JC; Jordan RM; Linn JG. 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. doi: [10.2134/agronj1975.00021962006700020019x](https://doi.org/10.2134/agronj1975.00021962006700020019x)
- Martens H; Næs T. 1987. Multivariate calibration by data compression. En: Williams P; Norris K, eds. Near-infrared technology in the agricultural and food industries American Association of Cereal Chemists, Inc. St. Paul, MN, USA
- Massart DL, Vandeginste BGM, Buydens LMC, De Jong S, Lewi PJ, Smeyers-Verbeke J 1997. Handbook of Chemometrics and Qualimetrics, Part A. Data Handling in Science and Technology, volume 20, part A. Elsevier: Amsterdam. bit.ly/3cOB8L2
- 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. 2018. El sorgo como alternativa forrajera al cultivo del maíz. Vaca Pinta 5:116–124. bit.ly/3cUSYmN
- Pereira-Crespo S; Botana A; Veiga M; González L; Resch C; García-Souto V; Martínez-Diz MP; Lorenzana R; Flores-Calvete G. 2022a. Prediction of quality of total mixed ration for dairy cows by near infrared reflectance spectroscopy and empirical equations. Journal of Applied Animal Research 50(1):69–79. doi: [10.1080/09712119.2021.2022488](https://doi.org/10.1080/09712119.2021.2022488)
- Pereira-Crespo S; Botana A; Veiga M; González L; Resch C; García-Souto V; Lorenzana R; Martínez-Diz MP; Flores-Calvete G. 2022b. Modelos de predicción del valor nutricional de henos de hierba. Información Técnica Económica Agraria (ITEA) 118(3):377–395. doi: [10.12706/itea.2021.031](https://doi.org/10.12706/itea.2021.031)
- Shenk JS; Westerhaus MO. 1991. Population definition, sample selection, and calibration procedures for near infrared reflectance spectroscopy. Crop Science 31(2):469–474. doi: [10.2135/cropsci1991.0011183X003100020049x](https://doi.org/10.2135/cropsci1991.0011183X003100020049x)
- Shenk JS; Westerhaus MO. 1993. Near infrared reflectance analysis with single and multiproduct calibrations. Crop Science 33(3):582–584. doi: [10.2135/cropsci1993.0011183X003300030032x](https://doi.org/10.2135/cropsci1993.0011183X003300030032x)
- Shenk JS; Westerhaus MO. 1994. The application of near

- infrared reflectance Spectroscopy (NIRS) to forage analysis. En: Fahey GC, ed. Forage Quality, Evaluation, and Utilization. ASA, CSSA & SSSA, Madison, WI, USA. p. 406–449. doi: [10.2134/1994.foragequality.c10](https://doi.org/10.2134/1994.foragequality.c10)
- Shenk JS; Westerhaus MO. 1996. Calibration the ISI way. En: Davies AMC; Williams PC, eds. Near Infrared Spectroscopy: the future waves. Proceedings of the 7th International Conference on Near Infrared Spectroscopy. NIR Publications, Chichester, West Sussex, United Kingdom, p. 198–202.
- Shenk JS; Workman JJ; Westerhaus MO. 2001. Application of NIR spectroscopy to agricultural products. En: Burns DA; Ciurczak EW, eds. Handbook of Near Infrared Analysis Marcel Dekker, New York, USA. p. 419–474.
- Tilley JMA; Terry RA. 1963. A two-stage technique for the *in vitro* digestion of forage crops. Grass and Forage Science 18(2):104–111. doi: [10.1111/j.1365-2494.1963.tb00335.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2494.1963.tb00335.x)
- Williams PC; Sobering DC. 1996. How do we do it: a brief summary of the methods we use in developing near infrared calibrations. En: Davies AMC; Williams PC, eds. Near Infrared Spectroscopy: The Future Waves. NIR Publications, Chichester, United Kingdom. p. 185–188.
- Williams PC. 2014. The RPD statistic: a tutorial note. NIR News 25(1):22–26. doi: [10.1255/nirn.1419](https://doi.org/10.1255/nirn.1419)
- Windham WR; Mertens DR Barton II FE. 1989. Protocol for NIRS calibration: sample selection and equation development and validation. En: Marten GC; Shenk JS; Barton FE, eds. Near Infrared Reflectance Spectroscopy (NIRS): Analysis of forage quality USDA Handbook N° 643, Washington, DC, USA. p. 96–103. bit.ly/3exbJpW

(Recibido para publicación 11 enero 2022; aceptado 26 agosto 2022; publicado 30 septiembre 2022)

© 2022



Tropical Grasslands-Forrajés Tropicales is an open-access journal published by *International Center for Tropical Agriculture (CIAT)*, in association with *The Tropical Crops Genetic Resources Institute of The Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences (TCGRI-CATAS)*. This work is licensed under the Creative Commons Attribution 4.0 International (CC BY 4.0) license.