

1

---

REVISIÓN CIENTÍFICA

---

### **Nota de la Dirección**

Este número de la Revista PASTOS contiene solamente dos artículos porque los contenidos, tanto de la Revisión Científica como del Artículo Científico, son muy amplios al incluir muchísima información desarrollada en Centros Españoles de Investigación durante un largo período de tiempo. Por su parte, la Revisión incluye un extenso Artículo Científico cuyos resultados permiten poner “a disposición de los laboratorios de análisis de forrajes, por primera vez en España, métodos validados para la estimación del valor energético de los ensilajes de hierba y de planta entera de maíz”.

## EVALUACION 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

G. FLORES CALVETE<sup>1</sup>, A. GONZÁLEZ-ARRÁEZ<sup>1</sup>, J. CASTRO GONZÁLEZ<sup>1</sup>,  
P. CASTRO GARCÍA<sup>1</sup>, M. CARDELLE CAMPOS<sup>2</sup>, B. FERNÁNDEZ LORENZO<sup>1</sup> y  
J. VALLADARES ALONSO<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Centro de Investigaciones Agrarias de Mabegondo (CIAM). Apartado 10. E-15080 A Coruña (España)

<sup>2</sup>Laboratorio Agrario e Fitopatológico de Galicia (LAFIGA).

Correo-e: gonzalo.flores.calvete@xunta.es

### INDICE

	Pág
Resumen .....	6
A. Revisión bibliográfica sobre la estimación de la digestibilidad de forrajes por métodos de laboratorio.....	8
B. Evaluación de métodos de laboratorio para la predicción de la digestibilidad <i>in vivo</i> de la materia orgánica de ensilajes de hierba y planta entera de maíz.....	27
Introducción.....	27
Materiales y métodos.....	27
Resultados.....	36
Discusión .....	67
Conclusiones.....	84
Referencias bibliográficas .....	85
Summary.....	98

## RESUMEN

Se estudia en este trabajo la capacidad predictiva de la digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica (DMO) de forrajes por los siguientes métodos: a) regresiones basadas en parámetros químicos de fácil determinación en laboratorio, b) digestibilidad *in vitro* con líquido ruminal según el método Tilley-Terry, c) técnicas de solubilidad enzimática (fibra neutro-detergente celulasa y pepsina-celulasa), d) producción de gas *in vitro* y d) técnica de reflectancia en el infrarrojo cercano. En la primera parte (A) del artículo se revisa información bibliográfica acerca de la estimación de la digestibilidad *in vivo* de forrajes por métodos de laboratorio. En la segunda parte (B) se describe el proceso de desarrollo de métodos de laboratorio para la estimación del valor energético de ensilajes de hierba y maíz, realizados en el Centro de Investigaciones Agrarias de Mabegondo (CIAM) de A Coruña. Para ello se utilizaron dos colecciones de 197 y 91 muestras de ensilajes de hierba y de planta entera de maíz, respectivamente, que fueron evaluadas *in vivo*, con ovinos alojados en jaulas metabólicas, en el CIAM, a partir de sucesivos proyectos de investigación. Salvo las determinaciones de producción de gas, realizadas por investigadores del País Vasco en el marco del convenio de colaboración CIAM-NEIKER sobre las colecciones gallegas, el resto de técnicas se realizaron y pusieron a punto, en su caso, en el CIAM. Las colecciones se componen de ensilajes procedentes, en su mayor parte, de explotaciones ganaderas y pretenden reflejar, en la mayor medida posible, la variabilidad existente en la práctica en cuanto al tipo de especies pratenses o genotipos de maíz utilizados, así como la tecnología de manejo del ensilado en las explotaciones a lo largo de sucesivas campañas.

Los valores medios de DMO (%) fueron  $67,8 \pm 6,7$  (rango 48,5 a 81,0) y  $68,6 \pm 3,2$  (rango 59,1 a 76,8) para los ensilajes de hierba y maíz, respectivamente. Para los ensilajes de hierba, el error mínimo de predicción (medido en términos de la desviación estándar residual de validación cruzada,  $RSD_{cv}$ ) de los modelos de una sola variable independiente que incluían digestibilidad *in vitro* con líquido ruminal (DoTT) y fibra neutro-detergente celulasa (DoNDC) fue de  $\pm 3,5$  y  $\pm 3,8$  unidades, respectivamente, para el conjunto de muestras de la colección. Para un grupo de 64 muestras de ensilajes de hierba donde se determinó también la solubilidad enzimática por el método pepsina-celulasa (DoPC), el valor de  $RSD_{cv}$  fue de  $\pm 3,2$ ,  $\pm 3,7$  y  $\pm 3,5$ , respectivamente, para DoTT, DoNDC y DoPC. Mientras que los valores medios de DoNDC y DoPC fueron 6 y 4 unidades inferiores al valor medio de DMO, éste fue muy similar al de DoTT. El mejor modelo basado en parámetros químicos, que incluía fibra neutro detergente (FND), proteína bruta (PB) y lignina ácido detergente (LAD) como predictores obtuvo un  $RSD_{cv}$  de  $\pm 4,3$  unidades. La utilización de la técnica de producción de gas *in vitro*, evaluada en un grupo de 72

muestras, mostró una precisión comparable a la obtenida con la técnica de digestibilidad *in vitro* con inóculo ruminal. El error de predicción obtenido para la técnica NIRS en validación cruzada para el conjunto de la colección se redujo a  $\pm 2,9$ .

Para los ensilajes de maíz, el error mínimo de predicción de DMO para los modelos de una sola variable con DoTT, DoPC y DoNDC fue de  $\pm 2,3$ ,  $\pm 2,7$  y  $\pm 2,8$  unidades, y de  $\pm 2,4$  para el mejor modelo multivariable que incluía LAD, PB, y fibra bruta (FB) como predictores. En contraste con lo observado para los ensilajes de hierba, el valor medio de DoTT de los ensilajes de maíz fue superior al de DMO en aproximadamente 6 unidades, mientras que los de DoNDC y DoPC inferiores en 2,7 y 3,4 unidades, respectivamente, siguiendo la misma tendencia observada en los ensilajes de hierba. La desaparición de materia seca de las bolsas de nylon incubadas *in situ* durante 72 h mostró una precisión comparable a la obtenida con la técnica de digestibilidad *in vitro* con líquido ruminal para la estimación de DMO de estos ensilajes. Los errores de predicción en validación cruzada para la técnica de producción de gas *in vitro* medida en 64 muestras de la colección fueron comparables a los obtenidos para DoTT y, para la técnica NIRS, inferiores a los obtenidos por cualquier otro método ( $RSD_{cv} \pm 2,0$ ).

Se concluye, como resultado de este estudio, que la técnica NIRS es superior al resto de los métodos evaluados en ambos tipos de muestras, a lo que se unen sus evidentes ventajas operacionales y economía en las rutinas de estimación. La capacidad predictiva de los métodos de incubación *in vitro* con líquido ruminal y producción de gas *in vitro* para la estimación de DMO se considera adecuada, mientras que las técnicas de solubilidad enzimática podrían ser útiles, a este respecto, para ensilajes de hierba pero no para ensilajes de maíz, en los que no mejoraron la precisión de las ecuaciones empíricas. A partir de estos resultados se pone a disposición de los laboratorios de análisis de forrajes, por primera vez en España, métodos validados para la estimación del valor energético de los ensilajes de hierba y planta entera de maíz.

**Palabras clave:** Forrajes, estimación, valor energético, modelos, comparación.

## A. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA SOBRE LA ESTIMACIÓN DE LA DIGESTIBILIDAD DE FORRAJES POR MÉTODOS DE LABORATORIO

### La necesidad de conocer el valor nutricional de los forrajes

El rumiante ocupa una posición estratégica con relación al hombre produciendo alimentos para su consumo a partir de alimentos fibrosos y fuentes de nitrógeno no proteicas que no pueden ser utilizadas por aquel, no compitiendo con la especie humana, al menos parcialmente, por alimento (Van Soest, 1983). Por otra parte Tamminga (1996) en una revisión sobre los impactos medioambientales de las estrategias de alimentación en rumiantes indica que el uso de energía fósil en la obtención de alimentos para rumiantes oscila, por kg de materia seca producida, de 1 a 3 MJ para el forraje a más de 8 MJ para los concentrados, indicando que la intensificación forrajera de las explotaciones es una vía de reducir el input de energía fósil destinada a la producción de alimentos para el ganado, contribuyendo por tanto a disminuir el impacto medioambiental de la producción ganadera.

Los forrajes constituyen de forma casi general las fuentes alimenticias más baratas para la producción de rumiantes. En un análisis de los costes de producción de forrajes en las explotaciones de Galicia, Rodríguez-Pérez (1989) estima que la relación entre el coste de la unidad de materia seca puesta a disposición del ganado para el forraje en pie, ensilado y un concentrado medio para vacuno de leche se encuentra en torno a 1:3:6, respectivamente, mientras Kertz *et al.* (1998) establecen una relación de 1:3,4 entre el coste del ensilaje de maíz y el concentrado, por unidad de materia seca.

El conocimiento preciso de la composición de los alimentos para el ganado es una condición necesaria para su utilización eficiente en la alimentación animal, a través de la preparación de dietas equilibradas. Tal información es vital cuando se trata de alcanzar los altos niveles de producción animal hoy en día requeridos para una producción competitiva, sin olvidar los requerimientos del mercado y consumidores en general acerca de la calidad y salubridad de los productos, así como la sensibilidad del público hacia sistemas de producción no agresivos para el medio ambiente. Por otra parte, el conocimiento de la composición química y el valor nutricional de los alimentos para el ganado es fundamental para la planificación de la producción forrajera de las explotaciones, de forma que los cultivos elegidos y su manejo respondan a las necesidades de una dieta equilibrada y económica para los animales a cuyo consumo van destinados. Desde un punto de vista político, la información acerca de la composición química y valor nutricional de los forrajes y alimentos para el ganado en general proporcionan información básica a los gestores políticos a fin de permitirles planificar una agricultura sostenible y competitiva.

Los alimentos para el ganado se describen usualmente en función de su composición química y de su valor nutricional. Los nutrientes esenciales incluyen agua, energía, aminoácidos, vitaminas y minerales, valorándose los alimentos en razón a su capacidad de suministrar energía y proteína a los animales (Van Soest, 1983). Las posibles deficiencias en vitaminas o minerales, en su caso, son fácilmente cubiertas mediante el uso de correctores apropiados. En general, la producción animal está limitada en primer lugar por el suministro de energía y en segundo lugar por el suministro de proteína (Weller y Jones, 2002; Anderson y Vanzant, 2000).

El valor nutritivo de un alimento es un concepto multifactorial, pero convencionalmente se clasifica por los nutricionistas en tres componentes generales: digestibilidad, consumo voluntario y eficiencia energética (Raymond, 1969). La aplicación práctica de los sistemas de evaluación de alimentos asumen que las características de los alimentos son variables mientras que las respuestas animales ante un alimento o dieta dados son comparativamente reproducibles (Van Soest, 1983). La variabilidad observada entre animales en las medidas de ingestión es marcadamente superior a la observada para las determinaciones de digestibilidad, indicando Van Soest (1983) que son de esperar coeficientes de variación entre animales del orden del 3 y 30% para las determinaciones de digestibilidad e ingestión, respectivamente.

El valor nutricional de los forrajes varía debido a su composición genética y como consecuencia de los procesos a que son sometidos (variabilidad intrínseca). Otra fuente de variabilidad surge de las diferencias en la metodología utilizada en la obtención de la información (variabilidad extrínseca). Los procedimientos de análisis y los protocolos de experimentación con animales pueden variar de acuerdo con el laboratorio o centro experimental donde se desarrollaron los trabajos. Este tipo de variabilidad debería ser minimizado para la obtención de resultados comparables y útiles. Por otra parte, la información relacionada con las características químicas y nutricionales de un forraje deben ser cuidadosamente examinada antes de su incorporación a una base de datos y, una vez incorporada, necesita ser manejada también con cuidado. De no hacerlo así, se producirá una falsa variabilidad entre forrajes, que puede comprometer el uso en la práctica de la información generada.

En las tablas de alimentación se asume que el mismo alimento posee una composición y valor nutritivo constante. Esto puede ser asumido como cierto para algunos productos, como los cereales, proteaginosas y concentrados. En el caso de los forrajes, además del estado de madurez, los factores de medio y clima contribuyen a modificar la estructura de la planta y determinan tanto la composición química como la biodisponibilidad de nutrientes. Por ello la información de las tablas es útil solamente en el área geográfica en la cual se obtuvieron los forrajes (Susmel *et al.*, 1991).

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

Para un forraje dado, el balance de material que desaparece a lo largo de su tránsito por el tracto digestivo del animal es una de las determinaciones más reproducibles, indicando Van Soest (1983) que la variabilidad observada en los ensayos de digestibilidad *in vivo* está inversamente relacionada con la digestibilidad del alimento. Según dicho autor, la mínima variabilidad esperada en dichos ensayos, expresada en términos de desviación estándar del valor medio es de  $\pm 2$  unidades de digestibilidad, para ensayos correctamente planteados y ejecutados, con un nivel de alimentación restringido. Dicho valor usualmente se incrementa para forrajes de baja calidad, para mayores niveles de ingesta o con animales de características heterogéneas, pudiendo tomarse esta diferencia de 2 unidades como el límite inferior de significación biológica en la discusión de los resultados de digestibilidad de los alimentos para rumiantes.

Wilkins (1969) define el concepto de digestibilidad potencial de un forraje como "la máxima digestibilidad alcanzable cuando las condiciones y duración de la fermentación no son factores limitantes". Como indica Minson (1990), para cada muestra de forraje hay sólo un valor de digestibilidad potencial (DP) pero existen una serie de valores de digestibilidad aparente *in vivo* (DA), dependiendo de la cantidad de material potencialmente digestible que escapa a la digestión en el animal (E) y de la inevitable producción de material metabólico que aparece en las heces (M), relacionándose dichos parámetros mediante la ecuación  $DA = DP - (E + M)$ . La cantidad de material metabólico inevitablemente perdido en las heces es directamente proporcional a la cantidad de materia seca ingerida, independientemente del tipo de forraje, excretándose 0,129 g de material de origen metabólico por cada g de materia seca ingerido (Van Soest, 1967). Por otra parte, la digestibilidad verdadera (DV) de un forraje (ocasionalmente usada en estudios de digestibilidad) se corresponde con el valor de la digestibilidad aparente adicionado del valor del material metabólico fecal  $DV = DA + M$ . Aunque fisiológicamente la digestibilidad verdadera representa la parte del alimento que es realmente incorporada a la sangre del animal, los procesos de digestión requieren sustancias procedentes del alimento que producen pérdidas fecales de origen metabólico. Por lo tanto el valor de la digestibilidad aparente describe con mayor exactitud el resultado neto del proceso que la digestibilidad verdadera (Van Es, 1979).

Mientras que la digestibilidad de los contenidos celulares del forraje es prácticamente total, la digestión de la pared celular es variable y depende, fundamentalmente, del grado de lignificación de la misma (Van Soest, 1983). Según Wilkins (1969), cualquier factor que reduzca el tiempo de exposición del alimento a la microflora del rumen, o que reduzca la actividad de los microorganismos celulolíticos conducirá a una depresión de la digestibilidad de la pared celular. Entre otros autores, Alwash y Thomas (1971) y Tyrrell y Moe (1975) estudiaron el efecto del nivel de

alimentación de los forrajes en la eficiencia con la que son digeridos por el ganado ovino, concluyendo que el incremento de la ingesta reduce la digestibilidad de la fibra de los forrajes debido, entre otros factores, a la reducción del tiempo de permanencia del alimento en el rumen. Por otra parte Doreau *et al.* (2000) indican que, en condiciones donde los animales son alimentados por debajo de las necesidades de mantenimiento, la digestibilidad de la dieta es con cierta frecuencia deprimida, indicando que una posible causa sería la reducción del crecimiento bacteriano en el rumen. Según señalan Tyrrell y Moe (1975), la depresión de la digestibilidad con el incremento del nivel de alimentación se hace claramente patente para las dietas con alto contenido en concentrado, mientras que cuando los forrajes se ofrecen como único alimento los cambios en la eficiencia digestiva con el incremento del nivel de alimentación son más reducidos. De la revisión efectuada por Doreau *et al.* (2000), en la que se examinan unas 70 publicaciones que estudiaron la variación de la eficiencia digestiva en ovinos y bovinos con el incremento del nivel de alimentación en dietas de diferente contenido en concentrado, se deduce que para dietas con menos del 20% de concentrado, a una variación del nivel de alimentación entre una y dos veces mantenimiento le correspondería una disminución de la digestibilidad de la materia orgánica (%) de 2 a 3 unidades.

El ganado vacuno digiere la materia seca del forraje más eficientemente que el ganado ovino (Cipolloni *et al.*, 1951; Playne, 1978), en particular cuando el forraje ofrecido es de baja calidad. Se ha relacionado la mayor eficiencia digestiva del ganado bovino en estas condiciones a un mayor tiempo de retención del alimento en el rumen comparado con el ovino (Poppi *et al.*, 1981). La diferencia media a favor de la especie bovina es establecida por Minson (1990) en algo más de dos unidades (%DMS), indicando dicho autor la ecuación  $DMS_{BOVINO} = 0,039 + 0,970 DMS_{OVINO}$  para describir la relación entre la digestibilidad (%) medida en las dos especies. Dicha ecuación fue obtenida para forrajes de gramíneas de digestibilidad media-baja, en el rango 40-60% DMS. A este respecto Heaney (1979) indica que cuando la digestibilidad de los forrajes es superior al 55-60%, los resultados de digestibilidad obtenidos con ganado ovino pueden ser aplicados al vacuno, lo cual es el caso general para los ensilajes obtenidos a partir de forrajes producidos en las explotaciones destinados a la alimentación de vacuno lechero.

Según Blaxter *et al.* (1956), en las determinaciones de digestibilidad con rumiantes el forraje es ofrecido "en cantidades exactas por largos períodos, a fin de asegurar que se alcanza una excreción regular de heces, momento a partir del cual se realiza la colección de las heces producidas durante un determinado intervalo de tiempo". Las determinaciones de digestibilidad *in vivo* representan los datos de referencia para los nutricionistas y son considerados generalmente como los datos más útiles acerca de un forraje (ENFIC, 1997), siendo los estándares frente a los cuales debe probarse la exactitud de los métodos indirectos de estimación del valor energético (Minson, 1990). El equipamiento y los

protocolos de actuación necesarios para las determinaciones de digestibilidad *in vivo* con ovinos han sido objeto de numerosas revisiones (Raymond *et al.*, 1953; Gálvez y Roselló, 1977; Cammell, 1977; Cochran y Galyean, 1994; Ørskov, 1999 ), de las que se derivan recomendaciones en cuanto a las instalaciones, tipo de jaulas, preparación y conservación del alimento a evaluar, tipo de animales y número a utilizar, duración de los períodos de adaptación y de control de la excreción de heces, toma de muestras de alimento ofrecido, rechazado y heces, y conservación de las muestras hasta su análisis (Tabla 1).

TABLA 1

**Recomendaciones sobre el procedimiento de realización de las evaluaciones de digestibilidad *in vivo* de forrajes con ovinos**

*Recommended procedures for the determination of in vivo digestibility of forages using sheep*

Característica	Recomendación
Instalación	Establo cubierto, bien ventilado, preferiblemente en condiciones de ambiente controlado. Las evaluaciones no deben hacerse fuera de la zona termoneutra del ganado ovino (-3 a 20 °C)
Jaulas metabólicas	Dotadas con separadores de heces y orina, diseñadas de forma que se minimice el estrés de los animales y se evite la contaminación de las muestras.
Tipo de animal (ovinos)	Machos, castrados, que hayan alcanzado su peso vivo maduro ( $\geq 2$ años), en buenas condiciones físicas y sanitarias. Debe prestarse atención acerca de la homogeneidad de los grupos de animales en cuanto a peso y alimentación previa al ensayo
Conservación del alimento a evaluar	La congelación rápida a $-15$ °C ejerce un efecto mínimo sobre la digestibilidad.
Número de animales por alimento a evaluar	Depende de la digestibilidad del alimento y del tamaño del error asumible en la estimación de la media. El coeficiente de variación entre individuos disminuye con el incremento de digestibilidad del forraje a evaluar. Utilizando un mínimo de 4 animales si sólo se mide digestibilidad y de 8 si se mide también ingestión permitirá detectar diferencias de digestibilidad (%) de 2-3 unidades y diferencias en ingestión voluntaria ( $g MS P^{0.75}$ ) de 6-10 unidades en la mayor parte de forrajes frescos y ensilados producidos en las explotaciones de vacuno lechero.
Duración del ensayo	El periodo de adaptación, dependiendo del forraje a evaluar y de la dieta previa de los animales, no debería ser inferior a 7-10 días. Para ensilajes, henos y forrajes de mala calidad debería ser de 14-20 días como mínimo, en particular si el nivel de alimentación es <i>ad libitum</i> . Un periodo de control de la producción de heces, alimento ofrecido y rechazado (en su caso) de 8-12 días es suficiente para la mayoría de forrajes, frescos y conservados.
Frecuencia de alimentación	Se recomiendan dos aportes diarios del alimento a evaluar, si bien hay escasa evidencia de que la frecuencia de alimentación afecte a la eficiencia digestiva (Bunting <i>et al.</i> , 1987).
Presentación del alimento	En función de la heterogeneidad de las características del forraje debe considerarse un picado suficiente para minimizar la selección por el ganado, particularmente en el caso de ser ofrecido a voluntad.
Nivel de alimentación	El alimento puede ser ofrecido a voluntad o a nivel próximo a mantenimiento ( $40 g MS P^{0.75}$ según ENFIC, 1997). La corrección del efecto del nivel de alimentación sobre la determinación de digestibilidad puede hacerse mediante la expresión $\Delta D = 10,7 - 0,113 D_m$ , (Blaxter, 1969) donde $\Delta D$ : descenso de digestibilidad al aumentar una unidad el nivel de alimentación, $D_m$ : digestibilidad medida a nivel de mantenimiento.
Muestreo de alimento ofrecido, rechazado y heces	Varia según las diversas fuentes. El muestreo diario del 10% del alimento ofrecido y rechazado y del 15-20% de las heces producidas, por animal, parece suficiente. La práctica de recoger las heces una sola vez al día no parece comprometer los resultados de los ensayos de digestibilidad (Cochran y Galyean, 1994)

Fuentes: Raymond *et al.* (1953); Blaxter (1967); Heaney (1970); Gálvez y Roselló (1971); Heaney (1979); Minson (1990); Cochran y Galyean (1994); ENFIC (1997); Ørskov (1999).

Según indican Demarquilly *et al.* (1989), las Tablas de valor nutritivo del INRA de 1998, que incluyen datos de 714 alimentos, de los cuales 609 son forrajes, proceden de evaluaciones de digestibilidad realizadas en Francia en más de 3 700 muestras, de las cuales 280 eran de ensilajes de gramíneas y leguminosas prateses y 120 de ensilaje de maíz. En las determinaciones de digestibilidad se utilizaron 6 ovinos machos de 2 a 4 años de edad, castrados, con períodos de adaptación y de control de 8-15 y 6 días, respectivamente. En prácticamente todos los ensayos el nivel de alimentación fue *ad libitum* (permitiendo un 10% de rechazos), a fin de medir digestibilidad e ingestión voluntaria en el mismo ensayo. En 17 comparaciones realizadas con forrajes de picado medio o largo, la digestibilidad medida *ad libitum* fue ligeramente inferior (1,6 unidades, %) a la medida en animales con alimentación restringida.

### **Relación entre digestibilidad y aporte energético**

La digestibilidad de la energía del forraje es un dato de fundamental importancia para los distintos sistemas de evaluación de alimentos utilizados en Europa, puesto que usualmente la energía es el principal nutriente que limita la producción animal (ENFIC, 1997). La cantidad de energía disponible para un animal se estima convencionalmente a partir de las siguientes ecuaciones (McDonald *et al.*, 1979):

Energía digestible (ED)= Energía bruta (EB) en el alimento – EB en las heces

Energía metabolizable (EM)= ED – (EB de la orina y metano producidos)

Energía neta (EN)= EM – Termogénesis inducida por la dieta (extracalor)

### **Energía Bruta**

El valor medio en EB de las dietas para rumiantes adoptado por el AFRC (1993) es de 18,8 MJ kg<sup>-1</sup> MS (4,49 Mcal kg<sup>-1</sup> MS). En las tablas de forrajes del Reino Unido (MAFF, 1992) se indica un valor medio de 18,5 MJ EB kg<sup>-1</sup> MS para henos, hierba fresca y ensilaje de maíz (rangos 18,1-18,6, 18,1-19,0 y 18,3-18,8 MJ kg<sup>-1</sup> MS, respectivamente), mientras que para ensilajes de hierba el valor medio es de 19,0 (rango 18,6-19,5) MJ kg<sup>-1</sup> MS. En el caso de concentrados el valor de EB varía entre 18,4 a 18,8 MJ kg<sup>-1</sup> MS.

Las estimaciones del INRA francés para EB se basan en el contenido en proteína bruta (PB<sub>o</sub>, expresada en g kg<sup>-1</sup> MO) para el caso de forrajes frescos o secos o PB<sub>o</sub> y pH para ensilajes (Velmoré, 1989) según las ecuaciones siguientes, donde la energía se expresa en kcal (1 kcal=4,18 kJ):

### *Forrajes frescos y secos*

EB (kcal kg<sup>-1</sup> MO)= 4531+ Δ + 1,735 PB<sub>o</sub>, donde Δ= - 71 para gramíneas pratenses; Δ= - 11 para trébol violeta, cereales inmaduros y henos de praderas temporales; Δ= 82 para alfalfa y henos de praderas permanentes.

### *Ensilajes de pradera*

$$\text{EB (kcal kg}^{-1}\text{ MO)} = 3910 + 2,450 \text{ PB}_o + 169,6 \text{ pH}$$

### *Ensilajes de maíz*

Para ensilajes de maíz el citado autor indica un valor fijo de EB (kcal kg<sup>-1</sup> MO)= 4678, que se aumenta a 4772 kcal kg<sup>-1</sup> MO para ensilajes con menos del 30% MS.

## **Relación entre Energía Digestible y Energía Metabolizable**

En el cálculo del valor de EM a partir del contenido en EB del alimento, la mayor pérdida de energía se produce en las heces, existiendo normalmente una buena correlación entre los valores de energía metabolizable y energía digestible del alimento o dieta, oscilando la relación EM/ED entre 0,77 a 0,83 (Minson, 1990). La medición directa del contenido en EM de un alimento implica, además de la determinación de las pérdidas de EB en orina, el disponer de una cámara respiratoria para determinar la fracción de EB perdida como metano. Cuando esto no es posible, según se indica en el estudio de ENFIC (1997) es aceptable asumir que las pérdidas de energía en orina y metano ascienden, como media, al 19% de la energía digerida (Armstrong, 1964), por lo cual el contenido en EM de un alimento se calcula a partir de la expresión  $EM = 0,81 \text{ ED}$ .

A causa de la relativa constancia del contenido en EB de la materia orgánica digestible para la mayor parte de los forrajes, así como de las pérdidas energéticas en orina y metano, es posible predecir el contenido en EM a partir del conocimiento de la digestibilidad de la materia orgánica (DMO), medida en ensayos *in vivo* o estimada por métodos indirectos. Alderman (1979) indica que puede asumirse que se producen 19 MJ de ED por cada kg de materia orgánica digestible consumida. Por su parte, Barber *et al.* (1984) en una revisión de resultados de evaluaciones *in vivo* de forrajes frescos, en las cuales se había determinado la digestibilidad de la materia orgánica y el contenido en energía metabolizable, observaron que la relación entre los contenidos en EM (MJ kg<sup>-1</sup> MS) y en materia orgánica digestible (MOD, g kg<sup>-1</sup> MS) era de 0,0157, la cual ha sido adoptada por el AFRC (1993) para obtener los valores de EM de este tipo de forrajes.

El valor medio de la relación EM/MOD, encontrado en la literatura para ensayos *in vivo* con ensilajes donde se midió la producción de metano, es de 0,0168, superior al

referido por Barber *et al.* (1984) para forrajes frescos, debido al mayor contenido en EB de los ensilajes. Sin embargo el AFRC (1993) adoptó un valor más bajo, de 0,016, a fin de tener en cuenta posibles pérdidas de volátiles durante el suministro y consumo del ensilaje por los animales. Los pasos a dar para estimar EM a partir de la DMO de un forraje son los siguientes (AFRC, 1993):

- i) Obtener el valor de la concentración de materia orgánica digestible en la materia seca (MOD), a partir del contenido en DMO ( $\text{g kg}^{-1}$ ) y en cenizas ( $\text{g kg}^{-1}$  MS) según la expresión  $\text{MOD} (\text{g kg}^{-1} \text{ MS}) = \text{DMO} \times (1000 - \text{cenizas}) / 1000$ .
- ii) Obtener el contenido en MS del ensilaje, corregido por el valor medio de pérdidas de volátiles en estufa durante el secado, según  $\text{MS}_c (\text{g kg}^{-1}) = 0,99 \text{MS}_{\text{estufa}} (\text{g kg}^{-1}) + 18,2$
- iii) Corregir el valor de MOD incluyendo los volátiles perdidos durante el proceso de secado, según  $\text{MOD}_c = 1000 - ((1000 - \text{MOD}) \times (\text{MS}/\text{MS}_c))$
- iv) Calcular el valor de EM a partir de  $\text{MOD}_c$  según  $\text{EM} (\text{MJ kg}^{-1} \text{ MS}) = 0,016 \times \text{MOD}_c$ .

En el sistema de valoración de alimentos del INRA francés se realiza el cálculo de la relación EM/ED a través de la ecuación

$$\text{ME}/\text{ED} = 0,8417 - (9,9 \times 10^{-5} \text{FB}) - (1,96 \times 10^{-4} \text{PB}) + 0,0221 \text{NA} \quad (\text{Vermorel, 1989}),$$

donde la concentración de FB (fibra bruta) y PB están expresados en  $\text{g kg}^{-1}$  de materia orgánica y NA es el nivel de alimentación ( $\text{NA}=1$  para mantenimiento). La validación de esta ecuación con resultados obtenidos en cámaras respiratorias mostró, según dicho autor, una diferencia media de 0,1% de EM/ED.

El cálculo del contenido en EM se realiza según la expresión  $\text{EM} = \text{EB} \times \text{dE} \times (\text{EM}/\text{ED})$ , donde dE es la digestibilidad de la energía. Este valor se puede estimar a partir de la digestibilidad de la materia orgánica, mediante las siguientes ecuaciones (Andrieu y Demarquilly, 1987):

$$\text{Forrajes frescos (gramíneas o leguminosas):} \quad \text{dE} (\%) = 0,975 \text{DMO} (\%) - 0,07$$

$$\text{Ensilajes de gramíneas o leguminosas:} \quad \text{dE} (\%) = 1,0263 \text{DMO} (\%) - 5,72$$

$$\text{Ensilaje de maíz:} \quad \text{dE} (\%) = 1,001 \text{DMO} (\%) - 2,86$$

### **Energía Neta**

La Energía Neta de un alimento representa la fracción de la EB del alimento que puede ser utilizada por el animal para el mantenimiento corporal y para propósitos productivos. La energía neta utilizada por un animal para mantenimiento equivale a la producción

calórica del animal alimentado a un nivel de mantenimiento en un ambiente termoneutro (AFRC, 1993). La relación entre la energía neta y la energía metabolizable de un alimento representa la eficiencia ( $k$ ) con la cual la EM es utilizada para mantenimiento y propósitos productivos, siendo  $(1-k)$  la proporción de EM perdida por extracalor. El valor de  $k$  es variable en función del uso a que vaya dirigido la EN (mantenimiento, producción de leche, engorde, etc) y depende de la relación entre la energía metabolizable y la energía bruta del alimento (metabolicidad de la EB,  $q=EM/EB$ ) (Van Es, 1975). Las ecuaciones de predicción de las eficiencias de utilización de la EM para mantenimiento, producción de leche y engorde utilizadas por los sistemas de evaluación inglés (AFRC, 1993) y francés (Vermorel *et al.*, 1989) se indican en la Tabla 2.

TABLA 2

**Valores de la eficiencia de utilización de la energía metabolizable para mantenimiento ( $k_M$ ), crecimiento ( $k_F$ ) y producción de leche ( $k_L$ ) en los sistemas de valoración de alimentos inglés y francés**

*Efficiency of utilisation of metabolisable energy for maintenance, growth and milk production in the french and english feeding systems*

Lactación	Mantenimiento	Crecimiento	Referencia
$k_L=0,420+0,35 q$	$k_M=0,503+0,35 q$	$k_F=0,06+0,78 q$	AFRC (1993)
$k_L=0,463+0,249 q$	$k_M=0,554+0,287 q$	$k_F=0,06+0,78 q$	Vermorel <i>et al.</i> (1987)

Mientras que en sistema de valoración inglés el valor energético de los alimentos se expresa en términos de energía metabolizable, en el sistema francés se expresa en términos de energía neta (Vermorel, 1989). En este sistema, el valor de energía neta de un alimento es diferente según se destine a la alimentación de vacas en lactación o animales en crecimiento y cebo. En el primer caso se relaciona con la energía neta que proporciona 1 kg de cebada estándar para producción de leche consumida sobre mantenimiento por vacas en lactación (1700 kcal), calculándose la Unidad Forrajera Leche (UFL) como  $UFL = EM \text{ (kcal kg}^{-1} \text{ MS)} \times k_L / 1700$ . Para animales de crecimiento y engorde, el contenido en energía neta de los alimentos se refiere a la cantidad de energía neta suministrada por 1 kg de cebada estándar para mantenimiento y retención de energía en el tejido corporal de un animal en crecimiento alimentado a 1,5 veces mantenimiento (1820 kcal), calculándose la Unidad Forrajera Carne (UFC) como  $UFC = EM \text{ (kcal kg}^{-1} \text{ MS)} \times k_{MF} / 1820$ .

### **El uso de técnicas indirectas para medir el valor energético de forrajes**

La obtención de datos fiables acerca del valor energético de los forrajes es un requisito necesario para la correcta formulación de dietas para rumiantes y contribuye

evidentemente a la valorización de los forrajes como alimento. Como se ha visto anteriormente, la mayor variabilidad en el valor energético de un alimento ocurre indudablemente en el valor de la digestibilidad de la energía, mientras que la magnitud de las variaciones en el contenido en energía bruta, pérdidas en orina y metano y en la eficiencia de utilización de la EM son, comparativamente, mucho menores (Alderman, 1979). Los esfuerzos de investigación dirigidos a la caracterización del valor nutricional de los forrajes en los diferentes países de nuestro entorno se ha centrado, en gran parte, en el desarrollo de métodos para la estimación de la digestibilidad *in vivo* de aquellos.

Debe ser tenido en cuenta, tal y señala Van Soest (1993), que la selección de un sistema de análisis para un programa de evaluación requiere la existencia de una colección de forrajes de valor nutritivo conocido. Entre otros factores, la fiabilidad de los sistemas de regresión depende en gran medida de si los forrajes de valor nutritivo conocido de los que se derivan las ecuaciones reflejan el balance de especies y las interacciones medioambientales características de los forrajes objeto de la predicción. La falta de suficiente variabilidad en la colección de base introducirá un sesgo sistemático en las ecuaciones de predicción respecto a las muestras problema.

La información acerca de la digestibilidad de los forrajes puede obtenerse al menos de cuatro diferentes formas: El resultado más exacto y repetible se obtiene mediante ensayos con animales (estudios *in vivo*). Este método no es práctico como una rutina de análisis a causa de las obvias limitaciones de coste, tiempo y mano de obra. Las evaluaciones *in vivo* son, como se ha indicado anteriormente, la "piedra de toque" frente a la cual se deben comparar otros métodos indirectos de estimación. Estos métodos alternativos se basan en: i) relaciones empíricas entre la composición química del forraje y digestibilidad, incluyendo las ecuaciones sumativas, ii) digestión *in vitro* e *in situ* de forrajes y iii) la estimación por el método de espectroscopía de reflectancia en el infrarrojo cercano (NIRS). Cada método tiene indudables ventajas y desventajas, siendo importante destacar que los métodos alternativos no predicen el mismo valor absoluto de digestibilidad para un conjunto de muestras dado (importante para la elaboración de raciones para el ganado) e incluso en ocasiones tampoco clasifican los forrajes por el mismo orden de digestibilidad (importante para procesos de selección y evaluación de especies y variedades forrajeras).

### ***Ecuaciones empíricas***

El uso de ecuaciones empíricas es una de las formas más comunes de estimar la digestibilidad de un forraje, toda vez que la determinación de la composición química del mismo es más rápido y menos costoso que la determinación de la digestibilidad por métodos *in vitro* o *in situ*. Las ecuaciones se derivan de regresiones establecidas entre la

digestibilidad y la concentración de una determinada fracción química, usualmente FND, FAD, Celulosa, Fibra Bruta, Lignina o proteína. En general, la fibra está correlacionada negativamente con la digestibilidad, mientras que el contenido en PB muestra una correlación positiva (Minson, 1982; Fannesbeck *et al.*, 1984). Una alta correlación entre un constituyente de la materia seca de un forraje y la digestibilidad de éste no es necesariamente prueba de la existencia de una relación directa causa-efecto, ni de la suficiente precisión de las estimaciones de la ecuación que utiliza dicho parámetro como predictor (Weiss, 1994). Conviene recordar asimismo que la falta de estandarización de las determinaciones de los predictores suele conllevar la inaplicabilidad de los modelos obtenidos fuera del ámbito de influencia del laboratorio donde fueron obtenidos (ENFIC, 1997).

Por otra parte, puesto que las ecuaciones representan relaciones estadísticas, son dependientes de la población donde fueron obtenidas. Los coeficientes de regresión están basados en la colección de datos a partir de la cual se generó el modelo, de forma que una población diferente, incluso para el mismo tipo de forraje, puede producir coeficientes significativamente diferentes. Una muestra de la dificultad de la obtención de ecuaciones de tipo general para un conjunto amplio de forrajes se ha puesto de manifiesto por Weiss (1994), quien indica que en tres ecuaciones obtenidas para estimar la digestibilidad *in vivo* (%) de gramíneas pratenses a partir de la concentración de FAD (%MS) las pendientes oscilaron entre  $-1,1$  y  $-1,4$  y el intercepto entre 106 y 118. Minson (1987) subraya la importancia de generar ecuaciones de predicción para poblaciones de grandes grupos de forrajes bien definidos, en particular forrajes frescos y conservados de gramíneas y leguminosas pratenses y maíz. Coincidiendo con esta opinión, Andrighetto *et al.* (1992), estudiando la fiabilidad de diferentes métodos de estimación de la digestibilidad *in vivo* de forrajes pratenses frescos y conservados como heno y ensilaje indican que el uso de ecuaciones específicas para cada tipo de forraje mejora substancialmente la precisión de las estimaciones, independientemente del método utilizado en la predicción.

Dentro de cada clasificación, sin embargo, las condiciones de medio y clima afectan tanto a la composición química y digestibilidad del forraje como a las relaciones entre dichas variables, por lo que ecuaciones generadas para un tipo de forraje en una región específica serán más exactas y precisas en las poblaciones de dicha zona que ecuaciones generadas en otras condiciones geográficas. Para ensilajes de fleo y festuca pratense cultivados en la misma zona geográfica de Finlandia, Korva y Kuori (1986) y Nousiainen *et al.* (2003) encuentran que ecuaciones de predicción basadas en la composición química del forraje explicaban un alto porcentaje de la varianza de la digestibilidad *in vivo* (91%, con FB y PB como predictores en el primer caso y 80%,

con FAD como predictor, en el segundo). La ampliación de la variabilidad en cuanto al tipo de especies, condiciones de cultivo y de medio suele reducir invariablemente la precisión de las estimaciones. Por ejemplo, De Boever *et al.* (1996) no encuentra correlaciones significativas entre los contenidos de FB, FAD y PB con la digestibilidad *in vivo* de 64 muestras de ensilajes de hierba de praderas compuestas por diversas especies y cosechadas en primeros y segundos cortes entre los años 1972 y 1991 en una misma localidad de Bélgica. Para dos poblaciones de ensilaje de hierba de gramíneas donde el raygrás inglés era la especie predominante, procedentes de zonas geográficas diferentes del Reino Unido, Barber *et al.* (1990) observaron que la varianza explicada de la DMO *in vivo* por ecuaciones que utilizaban el contenido en fibra ácido detergente modificada (Clancy y Wilson, 1966) como único predictor oscilaba entre 0,24 y 0,54% y que la línea de regresión difería significativamente en el intercepto en cerca de 8 unidades porcentuales.

La concentración de FAD en la materia seca es el parámetro utilizado más frecuentemente para predecir digestibilidad *in vivo*, en parte debido a la facilidad y bajo coste de la determinación analítica (Weiss, 1994). Como indica Minson (1987), los métodos de predicción más simples suelen ofrecer los errores de predicción más elevados. Se han observado correlaciones entre FAD y DMS *in vivo* que oscilan entre -0,5 y -0,95 y errores estándar de predicción entre 2 y 6 unidades (%), para diversos tipos de forraje, frescos y conservados (Minson, 1982). Según Adesogan (2002), en la predicción del contenido en energía metabolizable de ensilajes de hierba en el Reino Unido a partir del contenido en fibra ácido detergente modificada el coeficiente de correlación medio es únicamente de -0,34 y el valor SEP de 1,3 MJ kg<sup>-1</sup> (equivalente a 8,1 unidades de digestibilidad, expresada en g MOD g<sup>-1</sup> MS). Para este tipo de forraje Offer (1993) indica que el error de predicción máximo para considerar útil un método de estimación es del orden de 3 ud (g MOD g<sup>-1</sup> MS), lo cual es difícilmente alcanzable con ecuaciones empíricas basadas en la fibra. Por otra parte, las ecuaciones basadas en FND o FB no son más fiables, en general, que las que utilizan FAD como predictor, mientras que la utilización de LAD suele generar estimaciones ligeramente más precisas (De Boever *et al.*, 1996; De Boever *et al.*, 1999). A pesar de esta falta de precisión, Weiss (1994) indica que el contenido en fibra puede ser útil para predecir digestibilidad, una vez que la ecuación fue convenientemente validada, cuando las muestras problema son del mismo tipo de forraje que las muestras utilizadas para generar la ecuación y la concentración en fibra de la muestra problema no difieren substancialmente del correspondiente valor medio de la población de calibración, lo cual limita notablemente el alcance general de este tipo de ecuaciones.

## ***Métodos in vitro e in situ***

### ***Métodos in vitro***

El método Tilley-Terry (1963), basado en la incubación de las muestras de alimento en líquido ruminal y pepsina, intenta simular la digestión ruminal y gástrica en el animal y es uno de los más útiles para la predicción de digestibilidad *in vivo* de forrajes (Clancy y Wilson, 1966; Van Soest, 1976; de Boever *et al.*, 1988). El principal inconveniente de esta técnica es la laboriosidad de su determinación, lo que se acomoda mal con las labores de estimación rutinaria de la digestibilidad en un laboratorio y su dependencia de una fuente de inóculo ruminal, proporcionada por un animal donante (ovino o vacuno), con la consiguiente necesidad de instalaciones y mano de obra para su cuidado. Por otra parte, la creciente sensibilidad de la sociedad por el bienestar animal choca con el mantenimiento de animales fistulados, siendo crecientemente difícil en algunos países el obtener los permisos necesarios para preparar quirúrgicamente a los animales (Adesogan, 2002).

Los resultados de la técnica se ven también afectados por la variabilidad y calidad del líquido ruminal, influida, entre otros factores, por la especie animal, el tipo de dieta y el momento de extracción (Weiss, 1994), así como por la medida en la cual se mantienen las condiciones de anaerobiosis, el pH óptimo y la temperatura del inóculo durante su manipulación (Clancy y Wilson, 1963). Algunos trabajos han mostrado que la capacidad predictiva del método Tilley-Terry es menor para forrajes ensilados que para forrajes frescos (Givens *et al.*, 1995) y, a su vez, para ensilajes de maíz comparados con ensilajes de hierba (De Boever *et al.*, 1988). A causa de la variabilidad de la técnica analítica y de los factores de variación atribuidos al animal donante, deben desarrollarse ecuaciones de regresión para predecir la digestibilidad *in vivo* a partir de los datos obtenidos *in vitro*. El error de predicción se reduce notablemente cuando se desarrollan ecuaciones específicas para distintos tipos de forrajes, frescos y conservados (Weiss, 1994; De Boever *et al.*, 1996; De Boever *et al.*, 1997; Givens *et al.*, 1993 ).

Algunas técnicas que reemplazan el inóculo ruminal con celulasas comerciales han mostrado su utilidad en la estimación de la digestibilidad *in vivo* de forrajes (Hartley *et al.*, 1974; Jones y Hayward, 1973; Jones y Hayward, 1975). Comparados con el método de incubación con líquido ruminal, la medida de la solubilidad enzimática es por lo general más sencilla, demanda menos tiempo de análisis y no requiere animales fistulados. Sin embargo el principal problema de esta técnica es la variabilidad en la actividad de las preparaciones enzimáticas, lo que puede afectar seriamente a su reproducibilidad, recomendando De Boever *et al.* (1988) la utilización de muestras estándar en las diferentes tandas de ensayos. Las estimaciones de digestibilidad

obtenidas mediante las técnicas de solubilidad enzimática son con frecuencia más bajas que los correspondientes valores procedentes de ensayos *in vivo* por lo que se requieren ecuaciones de regresión para predecir la digestibilidad a partir de la solubilidad enzimática (Weiss, 1994). Los coeficientes de regresión, además de por la fuente de enzima, están afectados por el tipo de forraje y por el momento de cosecha (de Boever *et al.*, 1988; Givens *et al.*, 1993) por lo que deben ser elaboradas distintas relaciones predictivas para los diferentes tipos de forrajes. Por otra parte, las diferencias en el procedimiento de análisis han contribuido a limitar la adopción generalizada de la técnica. Realizado habitualmente en dos etapas, la aplicación de la celulasa puede ser precedido por un tratamiento con pepsina o con detergente neutro (Jones y Hayward, 1975; Aufrère, 1982; Dowman y Collins, 1982; Riveros y Argamentería, 1987; De Boever *et al.*, 1988). Otras modificaciones incluyen el pretratamiento con amilasa o gammanasa para alimentos ricos en almidón y extracto etéreo, respectivamente. Mientras que algunos resultados indican que el procedimiento pepsina-celulasa es más exacto y preciso, otros son favorables al método neutro detergente-celulasa, el cual requiere un menor tiempo de análisis comparado con el anterior (Dowman y Collins, 1982; Adesogan, 2002). Givens *et al.* (1990) observaron que los valores de solubilidad enzimática (métodos FND-celulasa y pepsina-celulasa) de una amplia muestra de gramíneas pratenses (n=173) estaban afectados significativamente por la especie vegetal a la que pertenecía la muestra, mientras que los correspondientes a la incubación *in vitro* con líquido ruminal no lo estaban lo que, en opinión de los autores, confería un mayor atractivo a este último método para la estimación de la digestibilidad *in vitro* por su mayor robustez, si bien los métodos enzimáticos eran más precisos (valores de SEP:  $\pm 2,8$ ,  $\pm 3,1$  y  $\pm 3,5$  para FND-celulasa, pepsina-celulasa e incubación con líquido ruminal, respectivamente). Es interesante señalar el hecho de que el poder predictivo de los tres métodos *in vitro* fue significativamente aditivo cuando se incluían en ecuaciones multivariantes para la predicción de DMO *in vivo*, hecho que había sido observado previamente en el caso de ensilajes de hierba (Givens *et al.*, 1989).

Como resultado de un *ring-test* en el que se compararon los resultados de la estimación de la digestibilidad de la materia orgánica *in vivo* de 27 muestras de hierba (incluyendo 6 estándares de digestibilidad *in vivo* conocida) mediante las técnicas de solubilidad enzimática (DoPC: pepsina-celulasa) e incubación con líquido ruminal (DoTT: Tilley-Terry) según las rutinas habituales de 12 laboratorios europeos (Van Waes *et al.*, 1997), se obtuvieron valores medios (y desviación estándar entre laboratorios) de 66,8% ( $\pm 4,3$ ) y 74,4 ( $\pm 5,6$ ); 71,0% ( $\pm 1,5$ ) y 75,6% ( $\pm 2,2$ ) para DoPC y DoTT, valores no corregidos y corregidos por los estándares de digestibilidad conocida, respectivamente. De entre las conclusiones del estudio, se destaca la mayor

reproducibilidad de la técnica de solubilidad enzimática, el incremento de reproducibilidad mediante la corrección con muestras de digestibilidad conocida y el mayor valor absoluto de la estimación de DMO *in vivo* mediante el método de incubación con líquido ruminal (+7,6 y +4,6 unidades porcentuales) para los valores sin corregir y corregidos, respectivamente.

#### *Método in situ*

La desaparición ruminal de la materia seca (o de sus componentes) de un forraje (técnica *in situ* o *in sacco* se realiza incubando la muestra colocada en bolsas de tejido sintético que permanecen suspendidas en el rumen de un animal canulado durante un tiempo variable (Ørskov *et al.*, 1980), siendo ampliamente utilizada debido a que es una de las pocas técnicas que permiten describir la cinética de la degradación del alimento en el rumen. El método *in situ* ha permitido mejorar substancialmente el conocimiento del suministro de N al animal rumiante y el papel de la síntesis microbiana en el rumen, formando parte del sistema de descripción del valor nitrogenado de los alimentos y las necesidades en N de los animales en diversos países (Ørskov, 2000). Mientras que la obtención de datos acerca de la cinética de digestión en el rumen requiere la incubación de las muestras durante diferente tiempo, puede obtenerse una estimación de la digestibilidad de un forraje realizando una simple incubación con una duración igual al tiempo de retención esperado para el alimento problema en el animal, a un determinado nivel de alimentación.

Coincidiendo con resultados publicados por otros autores, Flachowsky y Schneider (1992) y Judkins *et al.* (1990), observaron que la desaparición de materia seca en incubaciones de 48 o 72 se correlacionaba significativamente con la digestibilidad *in vivo* y permitía clasificar diferentes forrajes en cuanto a su digestibilidad *in situ* de forma consistente con los datos *in vivo*. Mientras que la desaparición de MS en la muestra incubada durante 72 horas era sistemáticamente superior al correspondiente valor de digestibilidad *in vivo* en los dos trabajos antes citados, Flachowsky y Schneider (1992) indican que la desaparición de MS a 48 h era numéricamente muy semejante al valor de DMS *in vivo*. A pesar de esta observación, es frecuente observar diferencias numéricas relativamente elevadas, por lo cual, según indica Weiss (1994), las determinaciones de desaparición *in situ* no deben ser tomadas como estimaciones directas de la digestibilidad de la materia seca, debiendo desarrollarse ecuaciones de regresión para predecir la digestibilidad *in vivo* a partir de los datos *in situ*. La incubación directa de las muestras de forraje en el rumen del animal representa una ventaja frente a los métodos *in vitro*, que intentan simular dichas condiciones en el laboratorio.

Sin embargo, según indican Noziere y Michalet-Doreau (2000), entre otros autores, la técnica *in situ* adolece de serios problemas de repetibilidad y reproducibilidad, ya que los resultados obtenidos están afectados por el método de preparación de la muestra, el procedimiento de lavado y secado de las bolsas, las pérdidas de partículas no degradadas de la bolsa, la contaminación microbiana de la muestra, el lugar y secuencia de la incubación, la especie animal utilizada y dieta ofrecida, así como la relación entre el tamaño de muestra incubada y la superficie de la bolsa, lo que dificulta sobremanera la estandarización de los resultados. En diversos ensayos realizados con ensilajes de hierba y maíz se ha observado que la capacidad predictiva del método *in situ* para la estimación de la digestibilidad *in vivo* fue superior a la obtenida mediante incubación con líquido ruminal (Aerts *et al.*, 1997; Ferret *et al.*, 1997) o mediante solubilidad enzimática (Barber *et al.*, 1990), mientras que en otras ocasiones se ha mostrado inferior a la de los métodos *in vitro* (Basery y Camping, 1988; Mbwile y Uden, 1991) e incluso a la de ecuaciones empíricas basadas en la concentración de fibra (Von Keyserlingk y Mathison, 1989).

### **Técnica NIRS**

La técnica de espectroscopía de reflectancia en la región del infrarrojo cercano es un método analítico físico, basado en la absorbancia de la luz en determinadas regiones de longitud de onda que se relacionan con la presencia de determinados enlaces químicos característicos de los constituyentes de los alimentos. Comparado con otros métodos, la técnica NIRS es única a causa de su naturaleza no destructiva, no requiere reactivos (por lo cual no es polucionante) y caracteriza la totalidad de la composición del forraje más bien que determinados componentes de interés (Williams, 1987; Williams y Sobering, 1996). Además esta técnica es especialmente adecuada para el procesado de grandes números de muestras y el coste del análisis es reducido al ser poco demandante de mano de obra, a pesar del coste relativamente elevado del equipo. La potencialidad del método NIRS para la determinación rápida y fiable de la calidad del forraje es conocida desde mediados de los años 70 (Norris *et al.*, 1976) hasta la actualidad, existiendo numerosos trabajos, en particular en los últimos 15 años, que muestran su utilidad en la predicción de un amplio rango de parámetros de calidad de los forrajes así como de su composición química (Deaville y Flynn, 2000). La obtención de estimaciones fiables por NIRS está ligada, en general, a la obtención de calibraciones para grupos específicos de forrajes desaconsejándose la utilización de las predicciones sin una adecuada validación (Adesogan, 2002). Para ensilajes de hierba, las predicciones de la digestibilidad *in vivo* mediante NIRS superan en exactitud y precisión a la alcanzada por cualquier otro método indirecto (Adamson y Givens, 1989; Barber *et al.*, 1990; De Boever *et al.*, 1996). A una similar conclusión llegan Dardenne *et al.* (1993) y Andrieu *et al.* (1999) para planta entera

de maíz, antes de ensilar, mientras que para ensilajes de este forraje De Boever *et al.* (1997) observan que la capacidad predictiva de la técnica NIRS no superó a la de los métodos *in vitro* y a ecuaciones empíricas basadas en el contenido en FAD del ensilaje.

En cualquier caso, debe ser recordado que la técnica NIRS requiere ineludiblemente la calibración con muestras de composición química y valor nutricional conocidos, determinados por métodos de referencia. Por lo tanto la validez de los datos obtenidos mediante NIRS nunca será superior a la correspondiente a las colecciones utilizadas para establecer las calibraciones (Beever y Mould, 2000). La técnica requiere un conjunto de datos suficientemente amplio y una actualización frecuente, que debe representar, en cuanto a la naturaleza de las muestras y su variabilidad, a la población de muestras objeto de la predicción. El coste de obtención de las muestras de calibración/validación y su mantenimiento es, por tanto, el factor principal que limita la adopción generalizada de la técnica, en particular para la predicción del valor energético de forrajes. Esto es puesto de manifiesto por Dardenne *et al.* (1993), quienes indican la necesidad de que el espectro de las muestras cuya predicción de digestibilidad *in vivo* se requiere esté incluido dentro del espacio definido por las muestras de calibración. Esto requiere el mantenimiento y ampliación anual de los modelos predictivos, lo cual es sumamente demandante de recursos en la selección y análisis de nuevas muestras por los métodos de referencia. Por esta razón los citados autores aconsejan, en determinados casos, centrar los esfuerzos en la predicción por NIRS de la digestibilidad *in vitro* (solubilidad enzimática) de la materia orgánica o, preferiblemente, de la pared celular del forraje con la mayor exactitud y precisión posibles, e incorporar esta predicción en modelos matemáticos robustos que ligen dicho criterio con la digestibilidad *in vivo*.

### **Algunas consideraciones en relación con la fiabilidad de los modelos de predicción**

Los métodos de estimación requieren el establecimiento de ecuaciones de regresión que relacionan la magnitud a estimar (variable dependiente) con el predictor o predictores (variables independientes). En este caso, los atributos de exactitud y precisión se refieren a la bondad del ajuste obtenido por el modelo en la población de muestras utilizado para desarrollar la regresión (conjunto de calibración) y a la capacidad de aquel para predecir adecuadamente los valores de la variable dependiente en un conjunto de muestras no utilizadas en el proceso de calibración (prueba del modelo obtenido en el conjunto de validación). Hoffman (2003) relaciona la exactitud de una ecuación con la capacidad de predecir adecuadamente el valor medio de un amplio conjunto de muestras, mientras que la precisión está asociada con el error cometido en la predicción del valor de una muestra individual de la población.

El coeficiente de correlación  $r$  o el coeficiente de determinación  $R^2$  son índices de la bondad del ajuste de la colección de muestras al modelo, tanto en los procesos de calibración como de validación, pero no dan información acerca de la exactitud y precisión de la predicción. El error de la regresión puede expresarse como la desviación estándar residual (RSD) o como el error de predicción (SEP), siendo el RSD una medida de la precisión con la que la población usada para generar la ecuación (conjunto de calibración) se ajusta al modelo, mientras que el SEP es una medida del error asociado a la predicción del valor de una nueva observación (Weiss, 1994).

El valor del error de predicción es siempre mayor que la desviación estándar residual. Según Minson (1987) el RSD es el mínimo error aplicable a cualquier valor predicho por la ecuación, y para una regresión lineal simple se calcula como,

$$RSD = \sqrt{(SS_y - \frac{(SP_{xy})^2}{SS_x}) / (n - 2)}$$

donde  $x$  es la variable independiente (resultado analítico),  $y$  es la variable dependiente (digestibilidad),  $n$  es el número de pares de observaciones del conjunto de calibración,  $SS$  es una suma de cuadrados y  $SP$  es la suma de productos. Este error se incrementa con la desviación respecto de la media de la variable independiente, pudiendo calcularse el error de predicción de una observación ( $y_i, x_i$ ) como

$$SEP_{y_0} = RSD \cdot \sqrt{1 + \frac{(k^2 + 1)}{n}}$$

donde  $k$  es la desviación de  $x_i$  respecto de la media de la población  $\bar{x}$  en múltiplos de su desviación estándar y  $n$  en número de observaciones (Givens *et al*, 1990).

Traxler *et al.* (1998), citando a Bibby y Totenburg (1977), proponen evaluar la precisión de las estimaciones mediante el análisis del cuadrado medio del error de predicción (CMEP) calculado como la media del cuadrado de las diferencias entre los pares de valores observados y los predichos por el modelo en el conjunto de validación

$$CMEP = \frac{1}{n - 1} \sum_{i=1}^{i=n} (O_i - P_i)^2$$

Por su parte Williams (1987), en una revisión de las variables que afectan a la predicción mediante NIRS, indica que el método más común de expresar la exactitud de las estimaciones es la magnitud del valor SEP, calculado como la desviación estándar de la diferencia entre los valores observados  $O_i$  y predichos  $P_i$  del conjunto de validación. Dicho autor indica que una medida de la exactitud relativa del modelo la constituye el

ratio entre la desviación estándar de los valores observados ( $s_o$ ) y el error estándar de predicción ( $REP = s_o / SEP$ ), o bien el error relativo al rango (RER), computado como  $RER = R_o / SEP$ , donde  $R_o$  es la diferencia entre los valores máximo y mínimo de la variable dependiente. Los estadísticos REP y RER son especialmente útiles cuando se comparan modelos obtenidos con diferentes poblaciones o con diferentes variables independientes, de forma que aquellos modelos que muestren los valores más elevados de dichos estadísticos serán los de mayor capacidad predictiva. Williams y Sobering (1996) sugieren, para las calibraciones NIRS, un valor máximo recomendado del error de predicción SEP de 0,1 veces el rango de la población para la variable a predecir.

## **B. EVALUACION 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**

### **INTRODUCCIÓN**

En el Centro de Investigaciones Agrarias de Mabegondo (CIAM) se han venido realizando sistemáticamente desde hace más de 10 años ensayos de evaluación *in vivo* encaminados a obtener métodos de predicción de la digestibilidad de la materia orgánica *in vivo* (DMO) de ensilajes de hierba y maíz. Se revisan en este trabajo los resultados más importantes obtenidos al respecto, discutiéndose la capacidad de diferentes técnicas de laboratorio para la predicción de DMO de los citados forrajes. Las ecuaciones de predicción que se presentan son destinadas a los laboratorios de análisis de forrajes de Galicia, examinándose modelos empíricos que utilizan parámetros químicos como predictores y modelos basados en determinaciones *in vitro* con líquido ruminal y solubilidad enzimática con celulasas, cuya fiabilidad es comparada con otros métodos que incluyen la producción de gas *in vitro* y la técnica NIRS .

### **MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **Características de las muestras**

##### ***Ensilajes de hierba***

La colección de ensilajes de hierba de digestibilidad conocida comprende 197 muestras evaluadas *in vivo* en el CIAM desde 1984, de las cuales aproximadamente las dos terceras partes procedían de explotaciones lecheras gallegas, siendo obtenidas las restantes en las fincas experimentales del CIAM sitas en las localidades de Mabegondo (Abegondo-A Coruña) y Pobra de Brollón (Lugo). Esta colección incluye muestras de hierba de pradera de distinta composición botánica y cultivos de raigrás italiano e inglés, en su mayor parte cosechada a lo largo del período de crecimiento de primavera-verano y refleja, en cuanto al tipo de cosechadora, presecado de la hierba y uso de aditivo, la tecnología de ensilado habitual en las explotaciones lecheras gallegas. Los ensilajes realizados en explotaciones ganaderas fueron seleccionados anualmente a partir de los resultados analíticos de las muestras obtenidas en el transcurso de la campaña anual realizada por los Servicios Técnicos de la Cooperativa Leyma hasta 1996 y posteriormente por el Laboratorio Interprofesional de Análise do Leite de Galicia

(LIGAL) y los Servicios Técnicos de la empresa PROGANDO S. L., atendiendo además a criterios relativos al tipo de pradera y tecnología utilizada en el ensilado, así como a la precocidad del corte y número del ciclo de aprovechamiento.

### ***Ensilajes de maíz***

La colección de ensilajes de planta entera de maíz de digestibilidad *in vivo* conocida comprende 93 muestras de 30 genotipos diferentes, pertenecientes de los ciclos FAO 200 a 400 cultivados en diferentes localidades gallegas a lo largo de los años 1997 a 2002. Aproximadamente la mitad de las muestras proceden de explotaciones lecheras gallegas, siendo el resto obtenidas en distintos experimentos realizados en las fincas del CIAM sitas en las provincias de Lugo y A Coruña.

### ***Toma de muestras para la evaluación in vivo***

Una vez transcurridos unos 2 meses desde la ejecución del ensilado se extraían aproximadamente 700 kg de ensilaje del silo, que eran ensacados en bolsas de plástico de 25-30 kg, trasladados a la nave metabólica y congelados a -27 °C hasta la determinación de la digestibilidad *in vivo*. En el caso de ensilajes de hierba cosechados con rotoempacadora o con autocargador no-picador, el forraje era picado a 2 cm con una picadora estática de precisión antes de su congelación.

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

Las evaluaciones de cada muestra de ensilaje se realizaron utilizando un mínimo de cinco carneros castrados de más de dos años de edad, de raza gallega, alojados en jaulas metabólicas dotadas con separadores de heces y orina. El diseño de dichas jaulas fue realizado en el CIAM por el investigador J. Castro González, y responde a los criterios de minimizar el estrés de los animales durante la realización de las evaluaciones y facilitar el trabajo de los operadores durante la alimentación y toma de muestras.

Los animales, que disponían de bloques de un corrector vitamínico-mineral a libre disposición, recibieron ensilaje como único alimento. Para los ensilajes de hierba, el nivel de alimentación fue *ad libitum*, ajustándose la oferta para permitir un 10% de rechazos, mientras que para los ensilajes de maíz, a fin de evitar la selección del forraje por los animales, el alimento se ofreció a un nivel restringido equivalente a unos 35 g de materia seca (MS) por kg de peso vivo metabólico ( $P^{0.75}$ ) inicial. Para este grupo de ensilajes se añadieron 2,3 g de urea por kg de materia fresca de alimento, repartidos homogéneamente en el forraje, antes de su distribución a los animales. El alimento fue ofrecido diariamente en una única comida, a primera hora de la mañana. Cada

evaluación se inició con un período variable (una a tres semanas) de adaptación al tipo de ensilaje a evaluar (maíz o hierba) antes de la entrada de los animales a la nave de digestibilidad para conseguir un cambio de alimentación progresivo. Una vez en la nave, el período de adaptación al ensilaje problema y a las jaulas metabólicas fue de 10 días de duración, donde se pesó diariamente el alimento ofrecido y rechazado por los animales, seguido por 11 días continuados de pesaje y muestreo diario del alimento ofrecido y las heces producidas, así como del ensilaje rechazado, en su caso, para cada animal. El muestreo fue realizado una sola vez al día, tomándose una alícuota del 10% del alimento ofrecido y rechazado y el 20% de las heces producidas para cada animal. Las muestras tomadas diariamente se fueron acumulando, congeladas a -27 °C, hasta el final de cada ensayo.

### **Análisis químico por vía húmeda**

#### ***Determinación de materia seca y preparación de las muestras para el análisis***

La preparación de las muestras para las posteriores determinaciones por vía húmeda se realizó mediante secado en estufa de aire forzado Unitherm, a 80 °C, durante 16 horas, determinando el contenido en materia seca por gravimetría. Las muestras secas se molieron en molino de martillos Christy & Norris con tamiz de 1 mm.

#### ***Humedad residual, cenizas y materia orgánica***

El contenido en humedad residual y cenizas (CZ) de las muestras secas y molidas se realizó mediante desecación a 102 °C y posterior calcinación secuencial a 460 °C en un analizador termogravimétrico MAC500 de Leco (LECO Corporation, St. Joseph, MI, EEUU), siendo expresado el valor de Materia Orgánica (MO) como 100-CZ.

#### ***Nitrógeno y proteína bruta***

La proteína bruta (PB) se calculó a partir del nitrógeno (N) total multiplicado por 6,25. La determinación de nitrógeno total en muestras secas y molidas se realizó mediante digestión micro Kjeldahl por ebullición con ácido sulfúrico y peróxido de hidrógeno para la oxidación de la materia orgánica, transformando el nitrógeno orgánico en ión amonio, seguida de la determinación colorimétrica del ión amonio, según el método descrito por Castro *et al.* (1990) adaptado a los autoanalizadores de flujo continuo TRAAKS y AAIII (Bran-Luebbe, Inc., Technicon Industrial Systems Corp., Tarrytown, NY, EEUU).

### ***Fibra Bruta***

La determinación de fibra bruta (FB) se realizó según el Método Oficial n° 7 del MAPA (1995), adaptado al digestor Fibertec System modelo 1020 de la marca Foss Tecator.

### ***Fibra Neutro Detergente, Fibra Ácido Detergente, Celulosa y Lignina***

Las determinaciones de fibra neutro detergente (FND) se realizaron siguiendo el procedimiento propuesto por Van Soest y Robertson (1991), y las de fibra ácido detergente (FAD) y celulosa (CEL) según Goering y Van Soest (1970). En la determinación de FND de los ensilajes de maíz se añadió  $\alpha$ -amilasa termoestable (Sigma A3306) a la solución detergente. Estos procedimientos fueron adaptados al digestor Fibertec System modelo 1020 de la marca Foss Tecator en el que se analizaron todas las muestras de ensilaje y la mayor parte de las heces y al FibreAnalyzer (ANKOM Technology Co., Fairport, NY, USA), utilizado para la determinación de FND en las heces correspondientes a 21 muestras de ensilaje de maíz. Se utilizaron muestras diferentes para la determinación de FND y FAD. La determinación de lignina (LAD) se realizó sobre el residuo insoluble en detergente ácido por el método de lignina-sulfúrico de Goering y Van Soest (1970). Los contenidos en FND y FAD se expresaron libres de cenizas y con cenizas, respectivamente.

### ***Almidón***

El contenido en almidón (ALM) de los ensilajes de maíz se determinó por polarimetría según el método oficial n° 34 del MAPA (1995).

### ***Contenido en energía bruta***

El contenido en energía bruta (EB) de las muestras secas y molidas se determinó en un calorímetro isoperibólico PARR-1281EF (Parr Instruments Company, Moline, IL, EEUU).

### ***Análisis realizados sobre muestras frescas de ensilaje***

Se realizaron según los métodos de rutina del Laboratorio Agrario e Fitopatológico de Mabegondo (LAF). Sobre el extracto de 50 g de muestra fresca de ensilado, macerada a temperatura ambiente durante 2 horas en 150 ml de agua destilada, se determinó el pH con un pHmetro provisto de electrodo combinado y el N amoniacal usando un electrodo selectivo (Orion). El contenido en ácidos grasos volátiles, ácido láctico y etanol se determinó a partir de dicho extracto mediante cromatografía de gases según una modificación del método de Stern y Endres (1991), realizada por M. Cardelle (Cardelle, comunicación personal). El contenido en N total (Nt) se realizó mediante digestión

macro Kjeldahl, según el método oficial n° 3 del MAPA (1995), seguido por destilación y determinación volumétrica del ión amonio. El contenido en N soluble se determinó en el macerado con agua destilada, a 80 °C, de 50 g de muestra fresca, mediante digestión Kjeldhal según lo descrito anteriormente.

Las muestras de ensilaje ofrecido se analizaron, según los métodos descritos, para determinar su contenido en MS, CZ, FND, FAD, CEL, LAD, FB, PB, EB, ALM (en muestras de ensilaje de maíz), pH, ácidos de fermentación, etanol, Nt, N amoniacal y N soluble, mientras que las heces y el alimento rechazado (en su caso) se analizaron para MS, CZ, PB, FND y EB. En el caso de los ensilajes de maíz no se realizó el análisis del contenido en PB de las muestras de heces.

Todas las determinaciones analíticas se realizaron por duplicado, repitiéndose el análisis cuando la diferencia entre resultados superaba el 5% del valor medio. Los resultados se expresaron en porcentaje sobre materia seca corregida por la humedad residual.

#### ***Corrección del contenido en materia seca por las pérdidas de volátiles durante el secado en estufa***

A partir del contenido en ácidos grasos volátiles (acético, propiónico y butírico), ácido láctico y etanol de las muestras de ensilaje, y asumiendo los coeficientes de volatilidad descritos por Dulphy y Demarquilly (1981) para el secado de muestras de ensilaje en estufa de gran capacidad a 80 °C, se calcularon las pérdidas de materia seca (PMS, en g por 100 g de materia seca no corregida), a partir de las cuales se obtuvo el factor de corrección  $FC_{MS}$ , calculado como

$$FC_{MS} = \frac{100 + PMS}{100}$$

El valor de la materia seca corregida por pérdida de volátiles ( $MS_c$ , %) se calculó como  $MS_c = MS \times FC_{MS}$ , donde MS es el contenido en MS (%) determinado en estufa. Los valores de composición química no fueron corregidos por la pérdida de volátiles.

#### **Determinación de la digestibilidad de la materia orgánica in vitro**

Las determinaciones de la digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica de los ensilajes se realizaron mediante los siguientes métodos:

- a) Tilley-Terry (DoTT) modificado por Alexander y McGowan (1969), utilizando como animales donantes dos vacas secas canuladas en rumen, alimentadas a nivel de mantenimiento con una dieta compuesta por heno de buena calidad y un concentrado del 18% PB a base de harina de cebada y soja. Se determinó el valor DoTT de todas las muestras de ensilajes de hierba y maíz.

- b) Solubilidad enzimática Fibra Neutro Detergente-Celulasa (DoNDC) según el método de Riveros y Argamentería (1987), utilizando la celulasa Onozuka R-10 (de *Trichoderma viride*), art. 102 321 de Merck, en todas las muestras de ensilaje de maíz y en 169 muestras de ensilaje de hierba.
- c) Solubilidad enzimática pepsina-celulasa (DoPC), según Aufrère (1999), en todos los ensilajes de maíz, y en 64 muestras de ensilaje de hierba, utilizando el mismo tipo de celulasa.

Los resultados de digestibilidad *in vitro* se corrigieron utilizando tres muestras de referencia de cada forraje introducidas como testigo en cada tanda a fin de controlar la variabilidad entre tandas sucesivas. Dicha corrección se ajustó a la expresión

$$Dx_c = \frac{Dr_m}{Dr_i} Dx_i$$

donde:  $Dx_c$  es la digestibilidad *in vitro* corregida para la muestra problema  $x$ ,  $Dx_i$  es la digestibilidad *in vitro* para la muestra problema  $x$  en la tanda  $i$ ,  $Dr_m$  es la digestibilidad *in vitro* media de las muestras de referencia y  $Dr_i$  es la digestibilidad *in vitro* de las muestras de referencia en la tanda  $i$ . Todas las determinaciones se realizaron por duplicado.

### **Determinación de la degradabilidad ruminal *in situ* de la materia seca de muestras de ensilaje de maíz**

A fin de evaluar la utilidad de los métodos *in situ* para la predicción de la digestibilidad de la materia orgánica *in vivo* de los ensilajes de maíz, se determinó la degradabilidad *in situ* de la materia seca en un subconjunto de 46 muestras de ensilaje de maíz<sup>1</sup>. Dicha evaluación se realizó sobre muestra secada en estufa de aire forzado a 40 °C durante 48h y molida a 3 mm en un molino Christy&Norris. Fueron utilizadas bolsas de nylon (ANKOM®, tamaño de poro 50±15µm), con una cantidad media de 14,7 mg de muestra por cm<sup>2</sup> de bolsa y tiempos de incubación de 0, 4, 8, 16, 24, 48, 72 y 96 horas, durante dos tandas consecutivas, en el rumen de tres vacas frisonas secas. Estas fueron alimentadas a nivel próximo a mantenimiento con una dieta compuesta por heno de buena calidad y ensilaje de maíz y un concentrado del 25% PB a base de pulpa, harina

<sup>1</sup> Estos resultados fueron obtenidos en el transcurso del proyecto de investigación PGIDIT 03RAG05E titulado "Desarrollo de un nuevo sistema de estimación de la degradabilidad ruminal de la proteína y de los carbohidratos de ensilajes y mezclas con concentrados para vacas de leche", iniciado en 2003 y realizado en colaboración entre la Cooperativa COREN y el CIAM con el asesoramiento del Dpto. de Producción Animal de

de maíz, gluten y harina de soja, en una proporción forraje:concentrado de 2/3:1/3, siendo ofrecida la comida dos veces al día, a las 10 y 18 h. Las bolsas, suspendidas del tapón de la cánula por un hilo de nylon de 35 cm de longitud, estaban lastradas con un peso de acero inoxidable de 400 g. Una vez transcurrido el tiempo fijado de incubación, las bolsas se sumergían en agua con hielo durante 10 minutos y posteriormente lavadas en lavadora automática con agua fría durante 30 minutos, seguido de un centrifugado suave. Las bolsas correspondientes a la hora cero pasaron directamente a la lavadora, Una vez lavadas, las bolsas permanecieron congeladas a -27 °C hasta ser secadas al final de cada tanda, en estufa de aire forzado a 80 °C durante 24 horas, seguido de pesada con precisión 0,1 mg tras pasar por un desecador.

Utilizando procedimientos de regresión no lineal (PROC NLIN, SAS Institute, 2000) se realizó el ajuste de los datos de porcentaje de desaparición (p) de materia seca de las bolsas en cada hora de incubación, siguiendo el modelo  $p=a+b(1-e^{-ct})$  (Ørskov y McDonald, 1979). Se obtuvieron los parámetros representativos de la fracción rápidamente degradable (a), lentamente degradable (b) y la velocidad de degradación en el rumen (c) para cada muestra, vaca y tanda. Posteriormente se calculó la degradabilidad potencial (DP) como  $DP=(a+b)$ , y para una tasa de paso  $k=0,06 \text{ h}^{-1}$ , la degradabilidad teórica (DT) según la expresión  $DT=a+(bc/(c+k))$ . Para cada muestra fueron promediados los valores correspondientes a las tres vacas y dos tandas de evaluación.

### **Cálculo de la digestibilidad aparente *in vivo* y correcciones por el nivel de pérdidas de volátiles durante el secado en estufa**

A partir de los resultados de las evaluaciones *in vivo*, y una vez completado el análisis de las muestras de alimento ofrecido, rechazado y heces producidas, se calculó, para cada animal utilizado en el ensayo, el coeficiente de digestibilidad aparente de la materia seca (CDMS), materia orgánica (CDMO) y energía (CDE) de las muestras de ensilaje de hierba y de maíz, según la expresión

$$CDx = \frac{\sum Xi - \sum Xe}{\sum Xi} \times 100$$

donde  $CDx$  es el coeficiente de digestibilidad aparente (en %), del constituyente  $x$ , siendo  $\sum Xi$  y  $\sum Xe$ , respectivamente, las cantidades ingeridas y excretadas de dicho constituyente por el animal a lo largo de los 11 días de control. La desviación estándar de la media de cada evaluación fue utilizada para calcular el error de determinación medio de los coeficientes de digestibilidad de las muestras de la colección. A fin de eliminar el efecto del nivel de alimentación (NA) de los distintos ensilajes sobre los

valores de digestibilidad (Blaxter, 1969), los valores correspondientes a cada animal fueron corregidos para un nivel de alimentación de mantenimiento (NA=1) tomado como 24 g de materia orgánica digerible ingerida/ kg P<sup>0.75</sup> según la expresión

$$CD_c = \frac{CD + 10,7(NA - 1)}{1 + 0,113(NA - 1)}$$

donde CD<sub>c</sub> es el coeficiente de digestibilidad aparente corregido a mantenimiento. No se realizó ninguna corrección para los coeficientes de digestibilidad obtenidos en ensayos con NA<1.

El cálculo de los coeficientes de digestibilidad aparente se realizó a partir de los resultados analíticos no corregidos por pérdidas de volátiles. Mientras que el secado de las heces en estufa no provoca pérdidas apreciables de materia seca, es necesario tener en cuenta dicho efecto para el forraje ensilado (Cochran y Gaylean, 1994; Grassland Research Institute, 1961), para lo cual, aparte de obtener el coeficiente de corrección de la MS, es preciso obtener las pérdidas correspondientes a la materia orgánica y energía bruta, respectivamente.

La relación entre el contenido verdadero en materia orgánica de una muestra y el determinado sobre la muestra seca en estufa (ambos valores referidos al contenido en MS no corregida) se calculó mediante la expresión

$$FC_{MO} = \frac{MO + (FC_{MS} - 1) \times 100}{MO}$$

donde MO se expresa en % MS. Para la corrección de pérdidas de energía bruta, además del contenido en compuestos volátiles de las muestras de ensilaje y su volatilidad según Dulphy y Demarquilly (1981), se consideró el diferente contenido en energía de dichos compuestos, siendo tomados los valores de 29,79; 14,60; 20,76; 24,93 y 15,16 kJ g<sup>-1</sup> para etanol y ácidos acético, propiónico, butírico y láctico, respectivamente. Obtenidas las pérdidas de energía bruta (PEB) durante el secado, el factor de corrección se obtuvo según

$$FC_{EB} = \frac{EB + PEB}{EB}$$

siendo EB el contenido en energía bruta de la materia seca en estufa. La corrección de los valores de los coeficientes de digestibilidad se realizó según lo indicado por el AFRC (1993), mediante las expresiones siguientes:

$$DMS = 100 - \frac{100 - CDMS}{FC_{MS}}, \quad DMO = 100 - \frac{100 - CDMO}{FC_{MO}} \quad \text{y} \quad DE = 100 - \frac{100 - CDE}{FC_{EB}}$$

donde DMS, DMO y DE son los valores del coeficiente de digestibilidad aparente de la materia seca, de la materia orgánica y de la energía bruta corregidos por la pérdida de volátiles durante el secado en estufa.

Para 24 muestras de ensilaje de hierba que no tenían completo el análisis fermentativo, los valores de  $FC_{MS}$ ,  $FC_{MO}$  y  $FC_{EB}$  se obtuvieron por regresión, a partir de las siguientes ecuaciones, obtenidas sobre las restantes 173 muestras con la analítica completa:

$FC_{MS}=1,056$  (s.e. 0,006\*\*\*) – MS x 0,00150 (s.e. 0,00009\*\*\*) + pH x 0,00645 (s.e. 0,002\*\*\*)  
 $R^2=0,44$ ; Valor medio 1,049; RSD=0,014; c.v.=1,37%

$FC_{MO}=1,054$  (s.e. 0,007\*\*\*) – MS x 0,00178 (s.e. 0,0001\*\*\*) + pH x 0,00864 (s.e. 0,002\*\*\*)  
 $R^2=0,46$ ; Valor medio 1,055; RSD=0,016; c.v.=1,54%

$FC_{EB}=1,059$  (s.e. 0,008\*\*\*) – MS x 0,00154 (s.e. 0,0001\*\*\*) + pH x 0,00701 (s.e. 0,002\*\*)  
 $R^2=0,36$ ; Valor medio 1,053; RSD=0,017; c.v.=1,68%

\*\*· p < 0,01    \*\*\*· p < 0,001

### Análisis estadístico

Se examinaron las relaciones entre los valores de digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica y las determinaciones de laboratorio mediante análisis de correlación y de regresión lineal simple y múltiple, precedida 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, RSQUARE, STEPWISE y GLM del paquete estadístico SAS v. 8,1 (SAS Institute, 2000). Para los ensilajes de hierba se realizó análisis de covarianza (PROC GLM de SAS) para estudiar el efecto de las variables de clase número de corte y tipo de pasto en los parámetros de las regresiones.

En la construcción de los modelos predictivos se utilizó un proceso secuencial de validación cruzada para los grupos de ensilajes de hierba y maíz, en el cual del conjunto de calibración era excluida secuencialmente una de las muestras, sobre la que se realizó la validación de la predicción de digestibilidad *in vivo* a partir del modelo de calibración generado. Repetido el proceso un número de veces igual al número total de muestras de cada grupo ( $n$ ), se computó el error estándar de validación cruzada ( $RSD_{cv}$ ) a partir de los errores de estimación ( $e_i$  = diferencia entre el valor observado y el predicho por el modelo) de las  $n$  muestras del conjunto de validación como

$$RSD_{cv} = \sqrt{\frac{\sum e_i^2}{n-1}}$$

El valor  $RSD_{cv}$  es muy cercano numéricamente al error estándar aplicable al valor predicho de una muestra individual, cuando el valor de la variable independiente es igual a la media de la población.

Fueron excluidos los modelos con un porcentaje de varianza explicada en validación cruzada inferior al 20% así como aquellos que incluían como predictores variables con

un elevado grado de colinealidad, dado su efecto negativo en la estabilidad de los coeficientes de los modelos de regresión, siendo aquel estimado a través de las herramientas de diagnóstico del procedimiento REG de SAS.

A fin de determinar posibles muestras anómalas y siguiendo el procedimiento descrito por Dardenne *et al.* (1993), con anterioridad al estudio de regresión se realizó un análisis de componentes principales (PROC FACTOR de SAS) para las principales variables analíticas, siendo calculada la distancia generalizada de cada muestra al centro del espacio definido por los 10 ejes mediante la expresión

$$d_i = \sqrt{\sum x_{ij}^2}$$

donde  $d_i$  es la distancia generalizada de la muestra  $i$  al origen y  $x_{ij}$  es la coordenada de la muestra  $i$  en el eje  $j$ . Posteriormente se revisaron aquellas muestras con distancia  $d > 4$ , a fin de decidir sobre si sus características aconsejaban descartarlas de las respectivas colecciones para el presente estudio.

## RESULTADOS

### Ensilajes de hierba

#### *Características de las muestras de la colección*

Las principales características de la colección de ensilajes de hierba en cuanto al tipo de pasto, ciclo y técnica de ensilado se muestran en la Tabla 3.

TABLA 3

**Caracterización de la colección de ensilajes de hierba: Porcentaje de muestras en cada grupo**  
*Characterisation of the collection of the herbage silages: Percentage of samples in each group*

Tipo de pasto		Presecado		Tipo de cosechadora	
Raigrás italiano	25,0	No presecado	71,6	Picadora de precisión	20,3
Raigrás italiano + trébol	5,6	Presecado	28,4	Cosechadora de corte directo <sup>2</sup>	14,6
Raigrás inglés	10,7			Autocargador	44,8
Raigrás inglés + trébol	49,0			Rotoempacadora	20,3
Mezclas <sup>1</sup>	9,7				

Número de corte		Uso de aditivo		Tipo de silo	
Primer corte (primavera)	75,2	Sin aditivo	65,1	Almiar sobre tierra	71,3
Segundo corte (primavera)	22,2	Fórmico <sup>3</sup>	21,1	Paredes y solera de obra de fábrica	28,7
Corte otoño	2,6	Otros aditivos	13,8		

<sup>1</sup> Mezclas de diversos tipos de pasto en el mismo silo. Incluye praderas naturales

<sup>2</sup> Cosechadoras de mayales y doble corte

<sup>3</sup> Incluye mezclas de Fórmico y Formol

La colección recoge la incorporación de ensilajes evaluados *in vivo* hasta el año 2002, con un total de 197 muestras, que procedían de un total de 104 explotaciones de las provincias de A Coruña y Lugo. Aproximadamente el 75% eran muestras de primer corte, correspondiendo el resto a ensilajes de segundo corte, salvo cinco muestras procedentes de hierba de otoño. Las fechas medias de aprovechamiento para las muestras de primer y segundo corte fueron, respectivamente, el 6 de Mayo ( $\pm 22$  d) y el 8 de Junio ( $\pm 21$  d). Las muestras fueron agrupadas, en cuanto a la composición botánica de la hierba de partida ensilada, en ensilajes de gramíneas, de gramíneas y trébol y de mezclas de distintos tipos de hierba, representando el 35,9, 54,1 y 10,0% del total de la colección, respectivamente. El 71,6 % de los ensilajes de la colección no fueron presecados, mientras que el 28,4% restante procedía de hierba que permaneció en el campo al menos 6 horas tras ser segada. En cuanto al tipo de maquinaria empleada en la recolección, el 44,8% de los ensilajes habían sido cosechados con remolque autocargador, el 20,3% con picadora de precisión, el 20,3% con rotoempacadora y el resto con cosechadora de corte directo. El 65,1% de las muestras de ensilaje no habían recibido aditivo, mientras que el 21,1% había sido tratado con ácido fórmico y el 13,8% restante con otro tipo de aditivo, que incluía sales de ácido, inoculantes o melazas.

### **Análisis de componentes principales**

El análisis de componentes principales se realizó sobre las 197 muestras y 12 parámetros (MS, pH, contenido en ácido láctico, digestibilidad *in vitro* con líquido ruminal (DoTT) y concentración de MO, PB, FND, FAD, CEL, LAD, FB y contenido en EB), si bien sólo 171 muestras con las series analíticas completas fueron utilizadas en los cálculos. Los dos primeros ejes (el primero relacionado con el contenido en fibra y la digestibilidad *in vitro*, y el segundo con el contenido en MS y ácido láctico) explicaron conjuntamente el 57% de la varianza total de la muestra para los 12 parámetros citados, correspondiendo al primer eje el 37% de la varianza total. En la Figura 1 se muestra el círculo de correlaciones de los parámetros con los dos primeros ejes, siendo incluidos los valores de digestibilidad *in vivo* (DMO) como variables suplementarias. Se incluye también los correspondientes valores de la digestibilidad *in vitro* con celulasas (DoNDC y DoPC), no utilizados en el análisis de componentes principales debido a que fueron determinados en 169 y 64 muestras únicamente. Como puede observarse, se advierte la asociación de los valores correspondientes al contenido en pared celular, a excepción de la concentración de LAD, estando inversamente relacionados con la digestibilidad *in vitro* y el contenido en PB. Los valores de digestibilidad *in vivo* están muy próximos a estos valores, y situados en la dirección opuesta a la línea que une los valores de fibra con los de DoTT, lo que sugiere su utilidad como predictores de la digestibilidad *in vivo*,

al contrario de lo que sucede para el contenido en EB, más relacionada con el contenido en MS, pH y MO que con los parámetros anteriores. El contenido en ácido láctico, por otra parte, está inversamente relacionado con el contenido en MS y pH.

Mientras que el factor 1 consigue explicar el 60% de la varianza de DMO, la aportación del factor 2 a este respecto es despreciable. La combinación de los 12 ejes permitió explicar el 89% de la varianza total de DMO, quedando sin explicar por las variables empleadas en el análisis el 11% restante. Dardenne *et al.* (1993) atribuye, como causa probable de la variabilidad no explicada, además de la ausencia en el modelo de otros parámetros que pudieran ser de interés, al error cometido en las determinaciones de la digestibilidad *in vivo*.

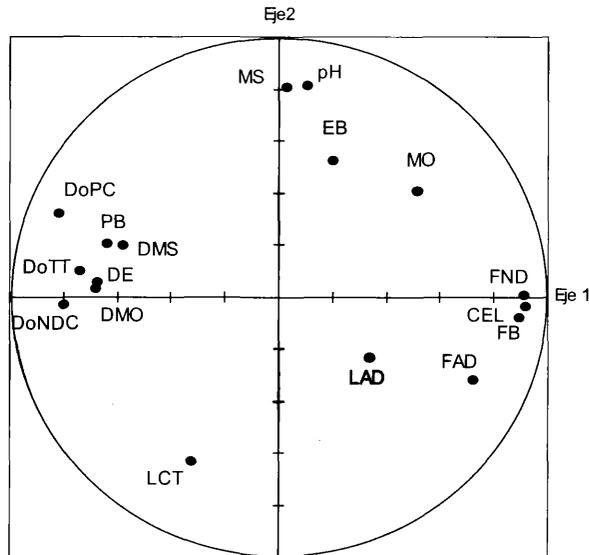


FIGURA 1

**Círculo de correlaciones entre los valores de digestibilidad y parámetros de composición química de ensilajes de hierba y los dos primeros ejes del análisis de componentes principales**  
*Correlations circle among digestibility values and chemical composition parameters of herbage silage samples and the two first axis of the principal component analysis*

De las 171 muestras de ensilaje de hierba, el análisis de componentes principales indicó que 20 de ellas tenían una distancia generalizada ( $dx$ ) mayor de 4. Dichas muestras se correspondían, en general, a ensilajes con contenidos en cenizas anormalmente bajos o elevados (<10% y >13% MS, respectivamente). Examinadas las características de dichas muestras se decidió no excluir a ninguna de ellas del estudio, ya que correspondían a

cortes de hierba muy madura o a hierba cosechada precozmente por corte directo, representativas de diferentes tipos de manejo en la práctica de las explotaciones.

### **Valores medios de digestibilidad *in vivo* e *in vitro* y composición química de las muestras**

Los valores medios de los coeficientes de digestibilidad aparente determinada *in vivo* (%) para la colección de ensilajes de hierba fueron de  $64,8 \pm 6,7$  para DMS,  $67,8 \pm 6,7$  para DMO y  $65,7 \pm 6,5$  para DE (Tabla 4). Dichos valores variaron ampliamente, en un rango de 46,1 a 77,3%; 48,5 a 81,0% y 44,3 a 78,9% para la digestibilidad *in vivo* de la materia seca, materia orgánica y energía bruta, respectivamente. El coeficiente de variación (%) fue semejante para los tres valores, oscilando entre 10,4 para DMS y 9,9 para DMO y DE, respectivamente. La diferencia de 3 unidades porcentuales entre los valores de DMS y DMO de la colección puede explicarse por el relativamente elevado contenido en cenizas de los ensilajes, particularmente en el caso de los realizados con cosechadoras de corte directo para los cuales la diferencia entre dichos valores fue de 5 unidades, con un contenido medio en cenizas del 13,5% MS. La precisión de la determinación de la DMO *in vivo* para el conjunto de las evaluaciones fue de 2,19 unidades porcentuales. Los valores medios de los coeficientes utilizados en la corrección de la digestibilidad *in vivo* por las pérdidas de volátiles durante el secado en estufa fueron de  $1,049 \pm 0,019$ ;  $1,055 \pm 0,022$  y  $1,053 \pm 0,022$ , para  $FC_{MS}$ ,  $FC_{MO}$  y  $FC_{EB}$ , respectivamente.

TABLA 4  
**Coefficientes de digestibilidad *in vivo* de la colección de ensilajes de hierba**  
*In vivo digestibility coefficients of the herbage silage collection*

Determinación	n	Media	s.d.	Máximo	Mínimo	c.v.
DMS (%)	197	64,82	6,77	77,39	46,10	10,44
DMO (%)	197	67,85	6,78	81,08	48,58	9,99
DE (%)	192	65,78	6,56	78,94	44,38	9,98

DMS: digestibilidad *in vivo* de la materia seca; DMO: digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica; DE: digestibilidad *in vivo* de la energía bruta

n: número de muestras; s.d.: desviación estándar; c.v.: coeficiente de variación

En la Tabla 5 se presentan los resultados de los principales análisis de laboratorio realizados en las 197 muestras de ensilaje de hierba. Salvo para el contenido en MS, que se presenta corregido y no corregido por pérdidas de volátiles durante el secado, los valores de los restantes parámetros se expresan sobre materia seca en estufa. La corrección del contenido en materia orgánica (MO), energía bruta (EB) y el resto de los parámetros de composición química (X) para expresarlos sobre materia seca corregida por pérdida de volátiles se realizaría como sigue:

$MOc=MO \times (FC_{MO}/FC_{MS})$ ;  $EBc=EB \times (FC_{EB}/FC_{MS})$  y  $Xc=X/FC_{MS}$ , tomando como valores de  $FC_{MS}$ ,  $FC_{MO}$  y  $FC_{EB}$  1,049; 1,053 y 1,055, respectivamente.

TABLA 5  
Análisis de laboratorio de las muestras de ensilajes de hierba

*Laboratory analysis of herbage silage samples*

Determinación	n	Media	s.d.	Máximo	Mínimo	c.v.
<i>Digestibilidad in vitro de la materia orgánica (%)</i>						
DoTT (método Tilley-Terry)	197	67,59	6,74	80,74	43,20	9,97
DoNDC (método FND-Celulosa)	169	59,52	7,97	79,18	38,26	13,39
DoPC (método Pepsina-Celulosa)	64	61,49	10,74	81,12	41,72	17,47
<i>Contenido en Materia Seca</i>						
Materia Seca (MS, %)	197	22,82	9,11	76,00	13,29	39,93
Materia Seca corregida <sup>1</sup> (MS <sub>c</sub> , %)	197	23,83	9,12	76,48	14,08	38,26
<i>Análisis químicos<sup>2</sup></i>						
Energía Bruta (EB, MJ/kg MS)	192	18,34	1,05	21,74	13,94	5,73
Cenizas (CZ, %MS)	197	11,56	3,34	31,65	6,43	28,90
Fibra Neutro Detergente (FND, %MS)	197	54,44	6,78	69,94	34,34	12,45
Fibra Acido Detergente (FAD, %MS)	197	37,08	4,86	51,78	23,93	13,10
Fibra Bruta de Weende (FB, %MS)	197	28,82	3,85	41,10	18,62	13,36
Celulosa (CEL, %MS)	197	27,83	4,49	39,61	14,00	16,14
Lignina-sulfúrico (LAD, %MS)	197	6,29	2,38	14,50	2,00	37,80
Proteína Bruta (PB, %MS)	197	13,08	3,32	24,46	6,02	25,38
pH	197	4,30	0,48	6,20	3,45	11,15
Acido Láctico (%MS)	173	5,69	3,15	17,28	0,10	55,38
Acido Acético (%MS)	173	2,15	1,21	7,50	0,08	56,44
N-NH <sub>3</sub> (% N total)	173	9,82	5,04	29,16	1,39	51,35

<sup>1</sup> MS<sub>c</sub>: materia seca corregida por pérdida de volátiles durante el secado en estufa (según Dulphy y Demarquilly, 1981)

<sup>2</sup> Expresados sobre materia seca no corregida por las pérdidas de volátiles en estufa.  
s.d.: desviación estándar; c.v.: coeficiente de variación; n: número de muestras

Los contenidos medios (y el rango de variación) fueron: MS(%) 22,8 (13,2 a 76,0), MS<sub>c</sub>(%) 23,8 (14,0 a 76,4), EB (MJ kg<sup>-1</sup> MS) 18,34 (13,9 a 21,7), MO (%MS) 88,6 (68,3 a 93,5), FND (%MS) 54,4 (34,3 a 69,9), FAD (%MS) 37,0 (23,9 a 51,7), FB (%MS) 28,8 (18,6 a 41,1), CEL (%MS) 27,8 (14,0 a 39,6), LAD (%MS) 6,2 (2,0 a 14,5) y PB (%MS) 13,0 (6,0 a 24,4). El cuanto a los parámetros fermentativos, se obtuvieron los siguientes valores medios (y rango de variación): pH 4,30 (3,45 a 6,20), ácido láctico (%MS) 5,69 (0,1 a 17,2), ácido acético 2,15 (0,08 a 7,5) y N-amoniaco (% N total) 9,82 (1,39 a 29,1).

Dado que el contenido en FAD está expresado con cenizas, puede ser de interés para comparar estos resultados con los obtenidos con otros trabajos el indicar la relación entre este valor de FAD y el expresado libre de cenizas (FAD<sub>s</sub>). A partir de los resultados

obtenidos en 139 muestras, donde el contenido en FAD se determinó libre de cenizas y con cenizas, se obtuvo la siguiente relación:

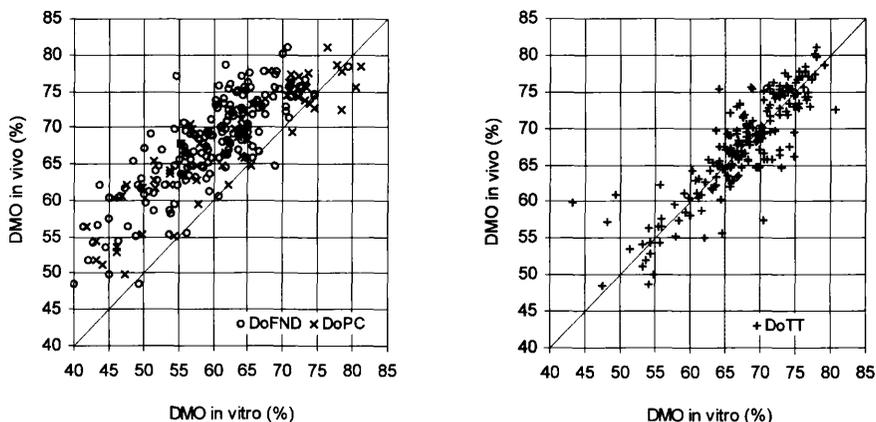
$$\text{FAD}_s = 7,081 \text{ (s.e. } 0,6^{***}) + \text{FAD} \times 0,899 \text{ (s.e. } 0,01^{***}) - \text{CZ} \times 0,568 \text{ (s.e. } 0,02^{***})$$

( $R^2=0,95$ ,  $\text{RSD}=\pm 0,94$ ,  $\text{c.v.}=2,85\%$ ,  $p<0,0001$ )

donde  $\text{FAD}_s$  y FAD (rango 23,8 a 51,2) son los contenidos en fibra ácido detergente (%MS) libre de cenizas y con cenizas, respectivamente, y CZ (%MS, rango 6,3 a 31,3) el contenido en cenizas de la muestra.

Para las 197 muestras de la colección, el valor medio de la digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica determinada con inóculo ruminal (DoTT: 67,5%) fue muy semejante al correspondiente valor *in vivo* (DMO: 67,8%), mientras que los valores obtenidos por la técnica de solubilidad enzimática tendieron a subestimar el correspondiente valor de digestibilidad de la materia orgánica *in vivo*. Considerando las 169 muestras en las que se determinó la digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica por el método FND-Celulasa (DoNDC), los valores de DMO, DoTT y DoNDC fueron, respectivamente, de 67,8; 67,5 y 59,5%, mientras que para las 64 muestras en las que se determinó la solubilidad enzimática por el método Pepsina-Celulasa (DoPC), los valores medios fueron de 67,3; 67,8; 57,0 y 61,4 para DMO, DoTT, DoNDC y DoPC, respectivamente. El coeficiente de variación de DoTT, del orden del 10% fue asimismo comparable al de DMO, en tanto que el de DoNDC (13,4 y 15,3% para los grupos de 169 y 64 muestras) y DoPC (17,4%) fueron superiores. Estos resultados concuerdan con los referidos por otros autores (De Boever *et al.*, 1999 y Givens *et al.*, 1989) en cuanto a la superior variabilidad de las determinaciones de digestibilidad por los métodos que emplean celulasas comparados con el método Tilley-Terry. En la Figura 2 se muestra gráficamente la relación entre los valores de la digestibilidad de la materia orgánica determinada *in vivo* e *in vitro*.

La utilización de estándares en cada tanda de digestibilidad *in vitro* permitió evaluar la magnitud de las diferencias entre duplicados y entre tandas para cada método. La media de las diferencias, en valor absoluto, entre duplicados de una misma tanda fue de 0,83 ( $\pm 0,7$ ), 0,66 ( $\pm 0,3$ ) y 0,71 ( $\pm 0,5$ ) unidades (%) para los métodos de digestibilidad con líquido ruminal, FND-Celulasa y Pepsina-Celulasa, respectivamente. Para la media de los valores de digestibilidad *in vitro* de los estándares en las sucesivas tandas se obtuvieron coeficientes de variación de 3,64; 2,00 y 2,72 %, respectivamente, para DoTT, DoNDC y DoPC.



DMO: digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica; DoTT: digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica con inóculo ruminal (método Tilley-Terry); DoNDC: digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica (método FND-Celulasa); DoPC: digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica (método Pepsina-Celulasa)

FIGURA 2

**Relación entre los valores de la digestibilidad *in vivo* e *in vitro* de la materia orgánica de ensilajes de hierba**

*Relationship between in vivo and in vitro organic matter digestibility of herbage silage samples*

***Correlaciones entre los valores de digestibilidad *in vivo* con las determinaciones *in vitro* y parámetros químicos***

En la Tabla 6a se expone la matriz de correlaciones entre los valores de digestibilidad *in vivo* de la materia seca, materia orgánica y energía bruta y los diferentes parámetros analíticos estudiados para el conjunto de la colección de muestras. Al margen de la elevada asociación entre los valores de DMS, DMO y DE (valor del coeficiente de correlación  $r$  entre 0,92 y 0,95,  $p < 0,001$ ), fueron observadas correlaciones significativas ( $p < 0,0001$ ) entre DMO y los valores de digestibilidad *in vitro*, componentes de la pared celular y proteína bruta. El poder predictivo de los diversos parámetros analíticos para la estimación de DMO de los ensilajes de hierba, en función del valor absoluto del coeficiente de correlación  $r$  fue superior para la digestibilidad *in vitro* con líquido ruminal DoTT (0,86) y la solubilidad enzimática DoNDC (0,83), comparados con el correspondiente a los parámetros químicos simples FND (-0,66), PB (0,67), FB (-0,57), FAD (-0,54), LAD (-0,37) y CEL (-0,36). Se destaca que, de entre los componentes de la pared celular, el contenido en FND fue el que mostró una mayor asociación con DMO, de magnitud comparable a la observada para el contenido en PB.

TABLA 6a

**Matriz de correlaciones entre valores de digestibilidad *in vivo* e *in vitro* (métodos con líquido ruminal y FND-celulosa) y parámetros analíticos de la colección de muestras de ensilajes de hierba**

*Correlations matrix among in vivo and in vitro (rumen liquor and FND-cellulase methods) digestibility values and chemical parameters of the herbage silage samples collection*

		DMS	DMO	DoTT	DoNDC	FND	FAD	FB	CEL	LAD	PB	EB
DE	r	0,92	0,95	0,83	0,81	-0,63	-0,55	-0,58	-0,35	-0,40	0,64	0,21
	P	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	0,0031
DMS	r		0,94	0,84	0,76	-0,55	-0,66	-0,48	-0,31	-0,42	0,63	0,24
	P		<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	0,0009
DMO	r			0,86	0,83	-0,66	-0,54	-0,57	-0,36	-0,37	0,67	0,07
	P			<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	n.s.
DoTT	r				0,79	-0,69	-0,68	-0,62	-0,47	-0,42	0,58	0,05
	P				<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	n.s.
DoNDC	r					-0,80	-0,58	-0,65	-0,51	-0,31	0,68	-0,11
	P					<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	n.s.
FND	r						0,63	0,71	0,73	0,17	-0,66	0,25
	P						<,0001	<,0001	<,0001	0,0203	<,0001	0,0005
FAD	r							0,59	0,64	0,43	-0,52	-0,24
	P							<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	0,001
FB	r								0,75	0,04	-0,41	0,05
	P								<,0001	0,5831	<,0001	n.s.
CEL	r									-0,29	-0,43	0,10
	P									<,0001	<,0001	n.s.
LAD	r										-0,23	-0,15
	P										0,001	0,043
PB	r											0,06
	P											n.s.
	n	197	197	197	169	197	197	197	197	197	197	192

Para las 169 muestras de las que se disponía del dato de fecha de cosecha de la hierba, fue observada una asociación negativa entre el valor de esta variable (en días desde el 1 de abril de cada año) y DMO, más elevada para las muestras de primer corte, con valores del coeficiente de correlación  $r$  de -0,64 ( $p < 0,0001$ ), -0,47 ( $p = 0,010$ ) y -0,56 ( $p < 0,0001$ ) para los ensilajes de primer y segundo aprovechamiento y el total de las muestras, respectivamente.

Cuando consideramos únicamente el subconjunto de 169 muestras con valores de DoNDC conocido, el orden de los anteriores parámetros en cuanto a poder predictivo se mantiene según lo anteriormente expuesto. Lo mismo sucede cuando se examina la matriz de correlaciones restringida a las 64 muestras en las que se determinó la solubilidad enzimática de la materia orgánica por el método Pepsina-Celulosa (Tabla 6b), obteniéndose una elevada asociación entre los valores de DMO y la digestibilidad

*in vitro* obtenida por cualquiera de tres métodos, que sin embargo fue ligeramente superior para la digestibilidad *in vitro* con líquido ruminal (valores de valores de *r* de 0,91, 0,89 y 0,89 para DoTT, DoNDC y DoPC, respectivamente,  $p < 0,0001$ ).

TABLA 6b

**Matriz de correlaciones entre valores de digestibilidad *in vivo* e *in vitro* (métodos con líquido ruminal, FND-celulasa y pepsina-celulasa) y parámetros analíticos de la colección de muestras de ensilajes de hierba**

*Correlations matrix among *in vivo* and *in vitro* (rumen liquor, FND-cellulase and pepsin-cellulase methods) digestibility values and chemical parameters of the herbage silage samples collection*

		DoTT	DoNDC	DoPC	FND	FAD	FB	CEL	LAD	PB	EB
DE	r	0,89	0,86	0,88	-0,68	-0,66	-0,54	-0,45	-0,56	0,68	0,26
	p	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0,041
DMS	r	0,91	0,84	0,89	-0,62	-0,74	-0,48	-0,42	-0,57	0,63	0,22
	p	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	n.s.
DMO	r	0,91	0,89	0,89	-0,71	-0,66	-0,54	-0,47	-0,50	0,68	0,11
	p	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	n.s.
	n	64	64	64	64	64	64	64	64	64	64

DE: digestibilidad *in vivo* de la energía bruta; DMS: digestibilidad *in vivo* de la materia seca; DMO: digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica; DoTT: digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica con inóculo ruminal (método Tilley-Terry); DoNDC: digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica (método FND-Celulasa); DoPC: digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica (método Pepsina-Celulasa); FND: Fibra neutro detergente (%MS); FAD: fibra ácido detergente (%MS); FB: fibra bruta (%MS); CEL: celulosa (%MS); LAD: lignina-sulfúrico (%MS); PB: proteína bruta (%MS); EB: energía bruta (MJ kg<sup>-1</sup> MS)

r: coeficiente de correlación; p: significación; n: número de muestras

Por otra parte, el contenido en EB mostró una correlación prácticamente nula con los valores de DMO y baja (aunque significativa) con DE y DMS. La concentración de cenizas en la materia seca de las muestras fue el parámetro que mostró una mayor correlación con EB ( $r = -0,56$ ,  $p < 0,0001$ ), mientras que cuando el contenido en energía bruta se expresa sobre materia orgánica (EBo) se advirtió una correlación significativa positiva de dicho valor con el contenido en PB y pH y negativa con el contenido en MS. Aunque a tenor de los resultados expuestos el valor de EB parece ser de poca utilidad para la estimación de DMO de ensilajes de hierba, el cálculo de la concentración en energía metabolizable o energía neta de un ensilaje requiere el conocimiento de este parámetro. Dado que en la muestra estaban representados ensilajes realizados por corte directo, los cuales con relativa frecuencia pueden presentar contaminación por tierra, se obtuvieron ecuaciones de regresión para los valores de EB y EBo, cuya relación con los mejores predictores se describe como sigue:

$$EB = 20,42 \text{ (s.e. } 0,22^{***}) - CZ \times 0,180 \text{ (s.e. } 0,01^{***})$$

$p < 0,0001$ ,  $R^2 = 0,32$ ,  $RSD = \pm 0,86$ ,  $c.v. = 4,75$ ,  $n = 192$

$$EBo = 17,18 \text{ (s.e. } 0,67^{***}) + PB \times 0,094 \text{ (s.e. } 0,01^{***}) - MS \times 0,039 \text{ (s.e. } 0,08^{***}) + pH \times 0,749 \text{ (s.e. } 0,179^{***})$$

$p < 0,0001$ ,  $R^2 = 0,26$ ,  $RSD = \pm 0,83$ ,  $c.v. = 3,99$ ,  $n = 192$ ,

donde EB está expresado en  $MJ \text{ kg}^{-1} \text{ MS}$  (valor medio 18,34), EBo se expresa en  $MJ \text{ kg}^{-1} \text{ MO}$  (valor medio 20,76), MS en % y los contenidos en CZ y PB en %MS.

**Relación entre los valores de digestibilidad *in vivo* de la materia seca, de la materia orgánica y de la energía**

Aunque el objetivo del presente trabajo era evaluar la capacidad predictiva de las determinaciones *in vitro* y parámetros químicos para la estimación de la digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica de los ensilajes de hierba, es de interés obtener ecuaciones de paso entre los valores de DMO, DMS y DE, cuyos resultados se muestran en la Tabla 7.

TABLA 7

**Relación entre los valores de digestibilidad *in vivo* de la materia seca (DMS) materia orgánica (DMO) y energía bruta (DE) de ensilajes de hierba**

*Relationships between in vivo digestibility values of dry matter (DMS), organic matter (DMO) and gross energy (DE) of herbage silages*

Ecuación de predicción	Media	n	Calibración		Validación cruzada	
			R <sup>2</sup> <sub>c</sub>	RSD <sub>c</sub>	R <sup>2</sup> <sub>cv</sub>	RSD <sub>cv</sub>
DMS (%) = 0,955 DMO s.e.: ±0,002**	64,82	197	(1)	2,32	0,88***	2,34
DMS (%) = 3,42 + 1,000 DMO - 0,564 CZ s.e.: ±1,0** ±0,01*** ±0,03***	64,82	197	0,96***	1,44	0,95***	1,43
DE (%) = 3,15 + 0,921 DMO s.e.: ±1,4* ±0,02**	65,78	192	0,91***	1,96	0,90***	1,97
DE (%) = - 88,15 + 1,996 DMO + 5,067 EB - 0,0598 DMOxEB s.e.: ±21,4*** ±0,3*** ±1,1*** ±0,01***	65,78	192	0,94***	1,65	0,93***	1,69

p: significación del modelo (\*\*\* p<0,001; \*\* p<0,01; \* p<0,05; n.s.: no significativo p>0,05)

(1) recta forzada a pasar por el origen de coordenadas

s.e.: error estándar del parámetro estimado

La digestibilidad de la materia orgánica *in vivo* explicó el 88% de la varianza de DMS, mientras que la inclusión del contenido en cenizas en el modelo permitió alcanzar el 96% de la varianza explicada, con un error mínimo de predicción (RSD) de 1,44 y 1,43 unidades (%) en calibración y validación cruzada, respectivamente, para este último. Por

su parte, la DMO explicó el 91% de variabilidad de la digestibilidad *in vivo* de la energía, porcentaje que se incrementó hasta el 94% cuando se incluía el contenido en energía bruta de las muestras en el modelo. El valor de RSD de calibración y validación cruzada fue, en este último caso, de 1,65 y 1,69 unidades (%), respectivamente.

### ***Modelos de regresión para la estimación de la digestibilidad de la materia orgánica in vivo***

La Tabla 8 muestra los estadísticos de regresión para los diferentes modelos que incluyen digestibilidad *in vitro* y parámetros químicos como predictores, ordenados dentro de cada grupo en orden creciente del porcentaje de varianza explicada por el modelo en la validación cruzada ( $R^2_{cv}$ ), incluyéndose la varianza explicada en calibración ( $R^2_c$ ) y los errores mínimos de predicción en ambos procesos ( $RSD_{cv}$  y  $RSD_c$ , respectivamente).

Los dos mejores modelos de una sola variable incluían a DoTT y DoNDC, por este orden, como predictores. Únicamente la inclusión del contenido en PB y FAD como variables independientes adicionales en el primer modelo, o PB en el segundo, contribuía significativamente a incrementar la varianza explicada de DMO. Considerando el conjunto de las 197 muestras de ensilaje de hierba, la digestibilidad *in vitro* con líquido ruminal permitió explicar el 73% de la varianza de DMO cuando se incluía como único predictor, mientras que llegaba a explicar el 79% en modelos multivariantes que incluían DoTT, PB y FAD, con valores de  $RSD_{cv}$  de  $\pm 3,5$  y  $\pm 3,2$  unidades (%), respectivamente. El menor poder predictivo de la solubilidad enzimática por el método FND-Celulasa comparada con la incubación con líquido ruminal es puesto de manifiesto por el hecho de que el porcentaje de varianza explicada por el modelo con DoNDC como única variable en validación cruzada es del 68%, ascendiendo al 70% cuando se incluía PB en el modelo, con errores mínimos de predicción ( $RSD_{cv}$ ) de  $\pm 4,0$  y  $\pm 3,9$  unidades, respectivamente.

La comparación de la capacidad predictiva de los dos métodos de solubilidad enzimática con el Tilley-Terry, realizado en un grupo de 64 muestras, mostró nuevamente la superioridad de este último, siendo obtenidos valores de  $R^2_{cv}$  de 0,82, 0,79 y 0,77, y de  $RSD_{cv}$  de  $\pm 3,2$ ,  $\pm 3,5$  y  $\pm 3,7$  unidades (%) para DoTT, DoPC y DoNDC, respectivamente. Para el modelo que relacionaba DMO con DoTT en este reducido grupo de muestras, el intercepto no fue significativamente diferente de cero, mientras que el coeficiente de regresión de la variable independiente no fue significativamente diferente de la unidad, mientras que para el conjunto de la colección dicho modelo incluía un intercepto significativamente diferente de cero ( $9,3 \pm 2,5$ ) y un coeficiente de regresión para DoTT ( $0,864 \pm 0,03$ ) significativamente diferente de la unidad. Esto puede explicarse por el hecho de que la selección del grupo de muestras en las que se determinó la solubilidad enzimática de la materia orgánica por el método Pepsina-Celulasa se realizó procurando incluir muestras que representasen todo el rango de digestibilidad *in vivo* de la colección, aproximadamente en la misma proporción, lo que mejoró los estadísticos de los modelos de regresión respecto a los obtenidos para el total de muestras.

TABLA 8

**Ecuaciones seleccionadas para la predicción de la digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica de ensilajes de hierba**

*Selected equations for the prediction of in vivo organic matter digestibility of herbage silages*

Ecuación de predicción	DMO <i>in vivo</i> %	n	Calibración		Validación cruzada	
			R <sup>2</sup> <sub>c</sub>	RSD <sub>c</sub>	R <sup>2</sup> <sub>cv</sub>	RSD <sub>cv</sub>
<b>a) Modelos que incluyen digestibilidad <i>in vitro</i> como predictor</b>						
<b>Conjunto de muestras con DoTT, DoNDC y DoPC conocidas</b>						
DMO= 21,67 + 0,798 DoNDC s.e. ±3,0*** ±0,05***	67,25	64	0,79***	3,60	0,77***	3,70
DMO= 27,08 + 0,654 DoPC s.e. ±2,5*** ±0,04***	67,25	64	0,80***	3,50	0,79***	3,57
DMO= 0,997 DoTT s.e. ±0,05***	67,25	64	(1)	3,24	0,82***	3,28
<b>Conjunto de muestras con DoTT ó DoNDC conocidas</b>						
DMO= 25,34 + 0,713 DoNDC s.e. ±2,1*** ±0,03***	67,83	169	0,69***	3,78	0,68***	3,81
DMO= 26,73 + 0,608 DoNDC + 0,371 PB s.e. ±2,1*** ±0,04*** ±0,11***	67,83	169	0,71***	3,67	0,70***	3,71
DMO= 9,39 + 0,864 DoTT s.e. ±2,5*** ±0,03***	67,85	197	0,73***	3,47	0,72***	3,55
DMO= 12,63 + 0,716 DoTT + 0,521 PB s.e. ±2,3*** ±0,04*** ±0,08***	67,85	197	0,78***	3,18	0,77***	3,24
DMO= 7,30 + 0,685 DoTT + 0,576 PB + 0,00270 DoTTxFAD s.e. ±2,9*** ±0,04*** ±0,08*** ±0,0009**	67,85	197	0,79***	3,10	0,78***	3,22
<b>b) Modelos que sólo incluyen parámetros químicos como predictores</b>						
DMO= 95,99 - 0,758 FAD s.e. ±3,1*** ±0,08***	67,85	197	0,29***	5,70	0,28***	5,74
DMO= 96,83 - 1,006 FB s.e. ±3,0*** ±0,10***	67,85	197	0,32***	5,60	0,30***	5,65
DMO= 104,0 - 0,664 FND s.e. ±2,9*** ±0,05***	67,85	197	0,44***	5,08	0,43***	5,12
DMO= 50,02 + 1,363 PB s.e. ±1,4*** ±0,10***	67,85	197	0,44***	5,06	0,43***	5,10
DMO= 80,23 - 0,748 FAD + 0,0322 FADxPB s.e. ±3,0*** ±0,06*** ±0,003***	67,85	197	0,52***	4,71	0,50***	4,75
DMO= 111,84 - 1,026 FND - 1,724 PB + 0,0494 FNDxPB s.e. ±9,3*** ±0,16*** ±0,63*** ±0,01**	67,85	197	0,57***	4,46	0,55***	4,50
DMO= 83,63 - 0,392 FND + 0,731 PB - 0,628 LAD s.e. ±4,76** ±0,06*** ±0,12*** ±0,13***	67,85	197	0,58***	4,42	0,56***	4,47
DMO= 109,05 - 1,909 FB - 1,750 PB + 0,0981 FBxPB s.e. ±9,2*** ±0,30*** ±0,66*** ±0,022***	67,85	197	0,59***	4,38	0,57***	4,45
DMO= 113,19 - 0,960 FND - 1,566 PB - 0,578 LAD + 0,0445 FNDxPB s.e. ±8,9*** ±0,15*** ±0,60*** ±0,13*** ±0,01***	67,85	197	0,63***	4,27	0,59***	4,32

Significación del modelo: \*\*\* p<0.001; \*\* p<0,01; \* p<0,05; n.s.: no significativo (p>0,05)

s.e.: error estándar del parámetro estimado; n: número de muestras

(1) recta forzada a pasar por el origen

R<sup>2</sup>: coeficiente de determinación

RSD: desviación estándar residual

Todos los modelos que contienen únicamente parámetros químicos como predictores presentaron menores porcentajes de varianza explicada y errores mínimos de predicción más elevados que cualquiera de los modelos que incluían valores de digestibilidad *in vitro* (DoTT o DoNDC) como predictor, poniendo de manifiesto la superioridad de los métodos biológicos frente a los basados en parámetros químicos como predictores de DMO de ensilajes de hierba. El mejor modelo multivariable de este tipo, que incluía FND, PB y LAD permitió explicar el 59% de la varianza de DMO en validación cruzada, con un error de predicción de  $\pm 4,3$  unidades. Los valores de  $RSD_{cv}$  de los modelos de una sola variable de este grupo fueron de  $\pm 5,1$  para PB y FND, de  $\pm 5,6$  para FB y  $\pm 5,7$  para FAD.

En la Tabla 9 se reflejan los resultados del análisis de covarianza realizado para estudiar el efecto de determinadas variables de clase en los mejores modelos predictivos de cada grupo. La realización del presecado, el tipo de cosechadora y el uso de aditivo no afectaron ( $p > 0,05$ ) a ninguno de los parámetros de los modelos seleccionados. Tampoco se observó efecto de la especie gramínea (raigrás italiano comparado con raigrás inglés) cuando el análisis de covarianza se realizó sobre las muestras de estas dos especies. Cuando se agruparon las muestras en los tipos Gramíneas, Gramíneas + Leguminosas y Mezclas, fue observado un efecto significativo ( $p < 0,05$ ) del número de corte y del tipo de pasto sobre el intercepto pero no sobre la pendiente ( $p > 0,05$ ) de regresiones basadas en digestibilidad *in vitro* y parámetros químicos como predictores. Dependiendo del modelo, la estimación de digestibilidad *in vivo* de los primeros cortes es superior en 1,1 a 1,8 puntos a la de los segundos cortes a igualdad de valores de las variables independientes. De la misma forma, la estimación de DMO para los ensilajes de hierba de gramíneas y trébol superó en 1,1 puntos a la de los ensilajes de gramíneas, y en 1,9 a 2,3 puntos a la de los ensilajes realizados con mezclas de distintos tipos de pasto (incluidas praderas naturales). La inclusión en los modelos de estas variables de clase permitió incrementar ligeramente la predicción de las estimaciones.

TABLA 9

**Ecuaciones para la predicción de la digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica de ensilajes de hierba que incluyen variables de clase número de corte y tipo de pasto**

*Equations for the prediction of the *in vivo* digestibility of organic matter of herbage silage which include the class variables number of cut and pasture type*

Ecuación de predicción	$\Delta_1$ (n° Corte) <sup>1</sup>		$\Delta_2$ (Tipo pasto) <sup>1</sup>			Calibración		Validación	
	1°	2°	Gramíneas	Gram + trébol	Mezclas <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> <sub>c</sub>	RSD <sub>c</sub>	R <sup>2</sup> <sub>ev</sub>	RSD <sub>ev</sub>
DMO= (6,75 + $\Delta_1$ + $\Delta_2$ ) + 0,685 DoTT + 0,620 PB + 0,00171 DoTTx FAD	1,12	0	1,04	2,27	0	0,80***	3,05	0,77***	3,21
DMO= (12,29 + $\Delta_1$ ) + 0,691 DoTT + 0,598 PB	1,54	0	-	-	-	0,78***	3,16	0,76***	3,32
DMO= (25,95 + $\Delta_1$ ) + 0,582 DoNDC + 0,444 PB	1,89	0	-	-	-	0,72***	3,58	0,69***	3,67
DMO= (79,99 + $\Delta_1$ + $\Delta_2$ ) - 0,415 FND + 0,820 PB - 0,486 LAD	2,07	0	1,99	2,95	0	0,62***	4,31	0,60***	4,43
DMO= (77,02 + $\Delta_1$ ) - 0,418 FND + 0,889 PB	2,84	0	-	-	-	0,58***	4,37	0,59***	4,54
DMO= (104,37 + $\Delta_1$ ) - 0,698 FND	2,24	0	-	-	-	0,48***	4,88	0,46***	5,15

Significación del modelo: \*\*\* p<0,001; \*\* p<0,01; \* p<0,05

<sup>1</sup> Intercepto diferente (p<0,05)

<sup>2</sup> Mezclas de distintos tipos de pasto en el mismo silo. Incluyen praderas naturales

s.e.: error estándar del parámetro estimado

R<sup>2</sup>: coeficiente de determinación

RSD: desviación estándar residual

## Ensilajes de maíz

### *Características de las muestras de la colección*

De las 93 muestras de ensilaje de planta entera de maíz evaluadas *in vivo* en el CIAM a lo largo de los años 1997 a 2003, 46 de ellas procedían de diferentes explotaciones ganaderas y el resto de diferentes experimentos realizados en el CIAM. La fecha media de siembra del cultivo fue el 17 de Mayo ( $\pm 11,9$  días) con un período medio de crecimiento de 130 ( $\pm 18,3$ ) días, recolectándose los ensilajes de explotaciones ganaderas entre el 15 de septiembre y el 15 de octubre, mientras que los producidos experimentalmente lo fueron entre la segunda semana de agosto y mediados de octubre. Si bien en la colección están incluidas muestras de ensilaje de plantas de maíz cosechadas en estado inmaduro, la mayor parte de aquellas corresponden a plantas que completaron su ciclo normal de cultivo. Todas las muestras fueron cosechadas con máquina picadora de precisión, siendo ensiladas en su mayor parte en silos de obra de fábrica de 150-300 m<sup>3</sup> de capacidad. Como se comentó anteriormente, en la colección están representados 30 genotipos diferentes, pertenecientes a los ciclos FAO 200, 300 y 400, a los que corresponden el 46,7; 41,9 y 11,4% de las muestras, respectivamente.

### *Análisis de componentes principales*

El análisis de componentes principales, para las 93 muestras de la colección, se realizó sobre 15 posibles predictores de DMO, incluyendo los valores de digestibilidad *in vitro* (DoTT, DoNDC, DoPC), y los contenidos en MS, MO, PB, FND, FAD, CEL, LAD, FB, almidón, ácido láctico y EB, así como el valor del pH, generándose en consecuencia 15 factores o ejes como combinación lineal de dichas variables. Los parámetros con más peso (correlación) en el primer eje, que explicó el 57,8% de la variabilidad total, fueron FND, CEL, FAD y FB y, con signo opuesto, MS y almidón, mostrando que dicho eje está relacionado fundamentalmente con la madurez de la planta. El segundo eje, que contribuyó a explicar un 11,8% de la varianza total, tenía al valor DoTT como el parámetro con mayor peso. DoNDC y DoPC, por su parte, mostraron una superior correlación con el primer eje. El tercer factor, donde el contenido en proteína bruta era el parámetro de mayor peso, aportó un 8,2 de varianza adicional.

En la Figura 3 se muestra el círculo de correlaciones de los parámetros con los dos primeros ejes, donde se han añadido los valores correspondientes a los coeficientes de digestibilidad *in vivo* como variables suplementarias.

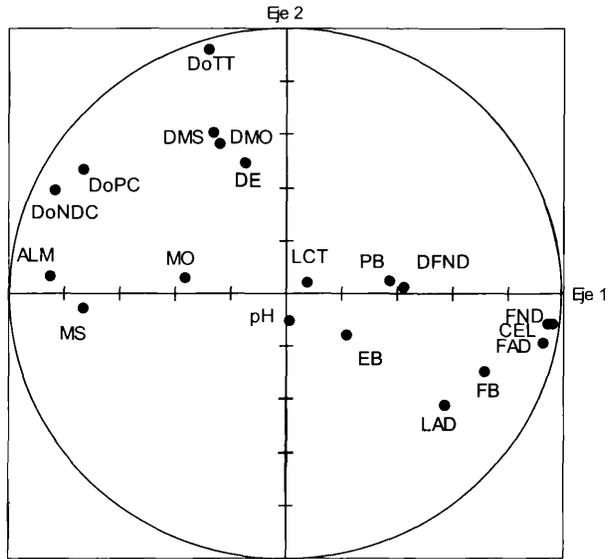


FIGURA 3

**Círculo de correlaciones entre los valores de digestibilidad y parámetros de composición química de ensilajes de maíz y los dos primeros ejes del análisis de componentes principales**  
*Correlations circle among digestibility values and chemical composition parameters of maize silage samples and the two first axis of the principal component analysis*

La disposición de las variables relacionadas con el contenido en pared celular, por un lado, y los contenidos en materia seca y almidón, por otro, señalan la relación negativa existente entre el avance de la madurez y el contenido en fibra de la planta de maíz. Como puede observarse, los valores de digestibilidad *in vivo* DMS, DMO y DE forman un grupo poco relacionado con el primer eje, sugiriendo una mayor asociación con DoTT que con los valores de solubilidad enzimática. La ubicación del valor de la digestibilidad *in vivo* de la pared celular (DFND), por otra parte, parece evidenciar una débil asociación con los restantes valores de digestibilidad *in vivo* y con el contenido en pared celular, mostrando una mayor relación (positiva) con el contenido en PB y negativa con el contenido en MS y almidón. De entre los valores situados en el cuadrante opuesto a donde se sitúa la digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica, únicamente el contenido en LAD está próximo al otro extremo de la línea que une DMO con el origen de coordenadas, si bien el contenido en lignina parece tener una asociación negativa más elevada con los valores de solubilidad enzimática de la materia orgánica DoNDC y DoPC.

Mientras que el primer eje sólo explicó el 4,5% de la varianza de DMO, la contribución del segundo, a este respecto, fue del 34,5%. La baja aportación del primer eje pone de manifiesto el escaso efecto de la madurez en la variabilidad de la DMO del ensilaje de la planta entera de maíz. Considerando conjuntamente los 15 factores generados, únicamente se llegó a explicar el 69,6% de dicha variabilidad.

De las 94 muestras, 17 de ellas mostraron una distancia generalizada mayor que 4. Examinadas las características de dichas muestras se comprobó que la mayor parte de las mismas eran ensilajes procedentes de plantas que habían sido cosechadas en un estadio precoz, con bajos contenidos de almidón y materia seca. Sin embargo, se decidió mantener a todas las muestras para los posteriores análisis, salvo a dos de ellas, procedentes de silos experimentales que habían sufrido el deterioro de la cubierta.

#### **Valores medios de digestibilidad *in vivo* e *in vitro* y análisis químico de las muestras**

Para las 91 muestras restantes, como se muestra en la Tabla 10, los valores medios del coeficiente de digestibilidad *in vivo* (%) fue de 67,0±3,5 para DMS; 68,6±3,2 para DMO; 66,5±3,2 para DE y 50,7±8,10 para DFND. Dichos valores variaron en un rango de 56,4 a 75,6%; 59,1 a 76,8%; 55,8 a 73,9% y 32,7 a 67,6% para DMS, DMO, DE y DFND, respectivamente. El coeficiente de variación para los valores de digestibilidad de los tres primeros parámetros osciló entre 4,7 y 5,3%, siendo notablemente más elevado para la digestibilidad de la pared celular, que alcanzó el 15,9%. La precisión de la determinación de la DMO *in vivo* para el conjunto de las evaluaciones fue de 2,14 unidades porcentuales, un valor semejante al obtenido para la colección de ensilajes de hierba tal y como se refiere en el apartado correspondiente de este trabajo. Los valores medios de los coeficientes utilizados en la corrección de la digestibilidad *in vivo* por las pérdidas de volátiles durante el secado en estufa fueron de 1,024±0,010; 1,025±0,011 y 1,031±0,018, para  $FC_{MS}$ ,  $FC_{MO}$  y  $FC_{EB}$ , respectivamente.

**TABLA 10**

#### **Coefficientes de digestibilidad *in vivo* de la colección de ensilajes de planta entera de maíz**

*In vivo digestibility coefficients of the whole-plant maize silage collection*

Determinación	n	Media	s.d.	Máximo	Mínimo	c.v.
DMS (%)	91	67,02	3,59	75,63	56,46	5,36
DMO (%)	91	68,69	3,29	76,85	59,14	4,79
DE (%)	86	66,54	3,21	73,92	55,86	4,82
DFND (%)	91	50,74	8,10	67,61	32,79	15,96

DMS: digestibilidad *in vivo* de la materia seca; DMO: digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica; DE: digestibilidad *in vivo* de la energía bruta; DFND: digestibilidad *in vivo* de la pared celular  
s.d.: desviación estándar; c.v.: coeficiente de variación

En la Tabla 11 se muestran los valores medios, desviación estándar, rango y coeficiente de variación de los diferentes análisis de laboratorio efectuados para el total de la colección de muestras. Salvo para el contenido de materia seca, ningún valor está corregido por la pérdida de volátiles en estufa. La corrección del contenido en materia orgánica (MO), energía bruta (EB) y el resto de los parámetros de composición química (X) para expresarlos sobre materia seca corregida por pérdida de volátiles se realizaría como sigue:  $MOc=MO \times (FC_{MO}/FC_{MS})$ ;  $EBc=EB \times (FC_{EB}/FC_{MS})$  y  $Xc=X/FC_{MS}$ , tomando como valores de  $FC_{MS}$ ,  $FC_{MO}$  y  $FC_{EB}$  1,024; 1,025 y 1,031, respectivamente.

El contenido en materia seca (corregido por pérdida de volátiles durante el secado en estufa) varió entre 16,3 y 45,0% reflejando el diferente estado de madurez de la planta en el momento de la cosecha. Considerando el nivel de MS como un indicador de la madurez de la planta, el aumento de la proporción de grano respecto del total de materia seca de la planta con el avance de la madurez causó un claro incremento ( $r = 0,82$ ,  $p<0,0001$ ) en el contenido de almidón y un descenso especialmente marcado para FND, FAD, CEL y FB ( $r = -0,73$ ,  $-0,70$ ,  $-0,73$  y  $-0,65$  respectivamente,  $p<0,0001$ ), seguido de PB ( $r = -0,58$ ,  $p<0,0001$ ), LAD ( $r = -0,45$ ,  $p<0,0001$ ), CZ ( $r = -0,28$ ,  $p=0,007$ ) y EB ( $r = -0,46$ ,  $p<0,0001$ ). La relación entre los contenidos de materia seca, DMO, FND y PB de las muestras de la colección de ensilajes de planta entera de maíz puede ser observado en la Figura 4.

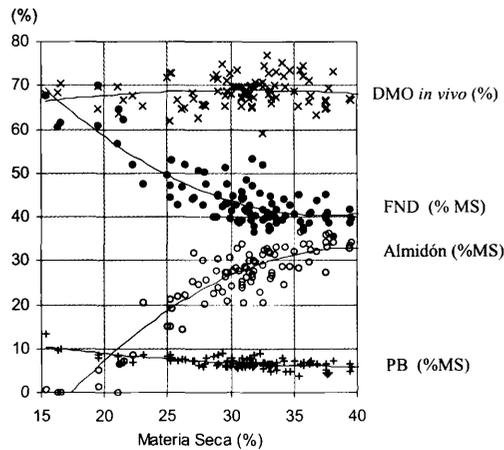


FIGURA 4

**Relación entre el contenido en materia seca y los valores de proteína bruta, almidón, pared celular y digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica para la colección de muestras de ensilaje de planta entera de maíz**

*Relationship between the dry matter content and the values of crude protein, starch, cell wall and in vivo organic matter digestibility for the collection of whole-plant maize silage samples*

Los contenidos medios (y el rango de variación) para los diferentes parámetros analíticos fueron: EB (MJ kg<sup>-1</sup> MS) 18,64 (17,4 a 20,2), MO (%MS) 96,0 (91,4 a 97,0), FND (%MS) 44,1 (35,6 a 64,7), FAD (%MS) 25,3 (19,6 a 36,6), FB (%MS) 22,9 (16,2 a 33,0), CEL (%MS) 22,8 (17,9 a 33,7), LAD (%MS) 2,2 (1,0 a 3,5), PB (%MS) 6,7 (3,8 a 9,9) y Almidón (%MS) 26,2 (0,0 a 37,5). Los valores medios de pH y ácido láctico (%MS) fueron 3,79 y 4,32, con rangos de variación 3,4 a 4,7 y 1,4 a 9,16, respectivamente.

Los valores medios obtenidos para la digestibilidad de la materia orgánica determinada *in vitro* fueron de 74,81; 65,99 y 65,22 para las técnicas de incubación con líquido ruminal (DoTT), FND-Celulosa (DoNDC) y Pepsina-Celulosa (DoPC), respectivamente. A diferencia de lo observado para los ensilajes de hierba, la digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica determinada con inóculo ruminal tendió a sobreestimar el correspondiente valor *in vivo*, siendo el valor medio de DoTT aproximadamente 6,1 unidades (%) más elevado que el correspondiente valor de DMO. Sin embargo los resultados obtenidos por las dos técnicas de digestibilidad enzimática, al igual que sucedía en el caso de los ensilajes de hierba, subestimaban la digestibilidad de la materia orgánica *in vivo*, siendo los valores medios de DoNDC y DoPC, respectivamente, 2,7 y 3,4 puntos inferiores al valor medio de DMO. El coeficiente de variación de los valores DoTT (4,4%) fue inferior a la de los métodos enzimáticos (6,8 y 7,6% para DoNDC y DoPC, respectivamente), lo que concuerda con lo referido anteriormente para ensilajes de hierba.

TABLA 11

**Análisis de laboratorio de las muestras de ensilajes de planta entera de maíz**

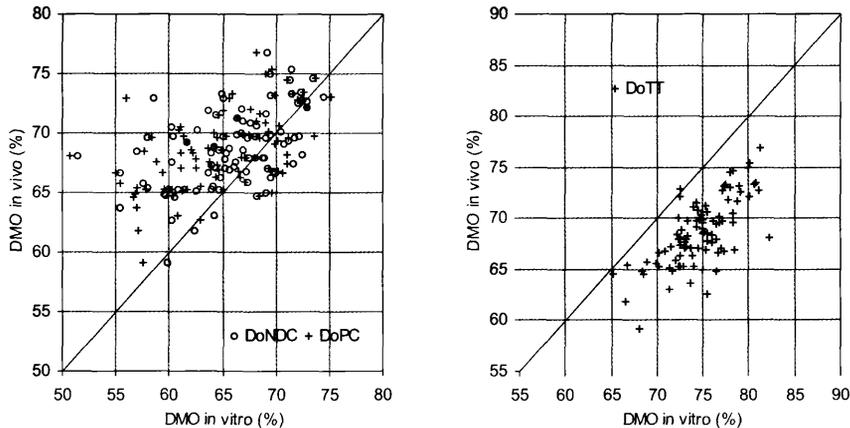
## Laboratory analysis of whole-plant maize silage samples

Determinación	n	Media	s.d.	Máximo	Mínimo	c.v.
<b>Digestibilidad <i>in vitro</i> de la materia orgánica (%)</b>						
DoTT (método Tilley-Terry)	91	74,81	3,32	82,30	66,54	4,44
DoNDC (método FND-Celulosa)	91	65,99	4,55	74,52	55,37	6,89
DoPC (método Pepsina-Celulosa)	91	65,22	5,00	75,20	55,03	7,67
<b>Contenido en Materia Seca</b>						
Materia Seca (MS, %)	91	30,38	5,06	44,35	15,40	16,65
Materia Seca corregida <sup>1</sup> (MS <sub>c</sub> , %)	91	31,07	5,06	45,07	16,30	16,28
<b>Análisis químicos<sup>2</sup></b>						
Energía Bruta (EB, MJ/kg MS)	89	18,64	0,47	20,28	17,49	2,53
Cenizas (CZ, %MS)	91	3,92	0,85	8,54	2,91	21,57
Fibra Neutro Detergente (FND, %MS)	91	44,14	6,09	64,73	35,69	13,81
Fibra Acido Detergente (FAD, %MS)	91	25,32	4,02	36,69	19,67	15,87
Fibra Bruta de Weende (FB, %MS)	91	22,93	3,71	33,05	16,22	16,18
Celulosa (CEL, %MS)	91	22,80	3,60	33,72	17,91	15,80
Lignina-sulfúrico (LAD, %MS)	91	2,29	0,52	3,53	1,02	22,82
Almidón (ALM, %MS)	91	26,21	8,32	37,50	0,00	31,73
Proteína Bruta (PB, %MS)	91	6,71	1,17	9,99	3,89	17,50
PH	91	3,79	0,20	4,70	3,40	5,18
Ácido Láctico (%MS)	91	4,32	1,67	9,16	1,41	38,64

<sup>1</sup> MS<sub>c</sub>: materia seca corregida por pérdida de volátiles durante el secado en estufa (según Dulphy y Demarquilly, 1981)

<sup>2</sup> Expresados sobre materia seca no corregida por las pérdidas de volátiles en estufa.  
s.d.: desviación estándar; c.v.: coeficiente de variación

En la Figura 5 se muestra gráficamente la relación entre los valores de digestibilidad de la materia orgánica determinada *in vivo* e *in vitro*.



DoNDC: digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica por el método FND-Celulasa  
 DoPC: digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica por el método Pepsina-Celulasa  
 DoTT: digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica por el método Tilley-Terry, con líquido ruminal

FIGURA 5

**Relación entre los valores de la digestibilidad *in vivo* e *in vitro* de la materia orgánica de ensilajes de planta entera de maíz**

*Relationship between in vivo and in vitro organic matter digestibility of whole-plant maize silage samples*

A partir de los valores observados para las muestras de referencia incluidas en las determinaciones de digestibilidad *in vitro* de las muestras de los ensilajes de maíz se comparó la variabilidad de la digestibilidad entre duplicados dentro de la misma tanda y la existente entre sucesivas tandas. La media de las diferencias, en valor absoluto, entre duplicados de una misma tanda fue de 0,93 ( $\pm 0,6$ ); 0,52 ( $\pm 0,3$ ) y 0,55 ( $\pm 0,4$ ) unidades (%) para los métodos de digestibilidad con líquido ruminal, FND-Celulasa y Pepsina-Celulasa, respectivamente. Para la media de los valores de digestibilidad *in vitro* de las muestras de referencia en las sucesivas tandas se obtuvieron coeficientes de variación de 1,53, 0,62 y 1,38% para DoTT, DoNDC y DoPC, respectivamente. Comparados estos resultados con los valores obtenidos para la colección de ensilajes de hierba, los resultados muestran que las técnicas de solubilidad enzimática fueron más repetibles y reproducibles (atendiendo a la magnitud de la diferencia entre duplicados dentro de cada tanda y a la variabilidad entre tandas) que la que utiliza inóculo ruminal en ambos tipos de muestras, y que la técnica FND-Celulasa fue ligeramente superior, a este respecto, al método Pepsina-Celulasa.

***Correlaciones entre los valores de digestibilidad in vivo con las determinaciones in vitro y parámetros químicos***

En la Tabla 12 se expone la matriz de correlaciones entre la digestibilidad *in vivo* de la materia seca, de la materia orgánica, de la energía bruta y de la pared celular y los diferentes parámetros analíticos estudiados para las 91 muestras de la colección. Se observó una alta asociación entre los valores de DMS, DMO y DE, con valores del coeficiente de correlación  $r$  de 0,98 entre DMO y DMS, 0,91 entre DMO y DE y 0,89 entre DMS y DE ( $p < 0,0001$ ), mientras que la digestibilidad *in vivo* de la pared celular mostró una débil, aunque significativa, asociación con DMO y DE ( $r = 0,28$  y  $0,46$ , respectivamente), pero no con DMS ( $r = 0,19$ ,  $p > 0,05$ ).

Fueron observadas correlaciones significativas ( $p < 0,05$ ) entre DMO y los valores de digestibilidad *in vitro*, componentes de la pared celular y energía bruta, no siendo significativas para los contenidos en materia seca, almidón y proteína bruta. En general, la magnitud de dicha asociación fue claramente inferior para los ensilajes de maíz en comparación con la observada para la colección de ensilajes de hierba.

La capacidad de los diferentes parámetros estudiados para la estimación de la digestibilidad de la materia orgánica *in vivo*, medida en función del valor absoluto del coeficiente de correlación, fue superior para la digestibilidad *in vitro* con líquido ruminal DoTT ( $r = 0,71$ ;  $p < 0,0001$ ) comparada con la exhibida por el resto de los posibles predictores, seguida por la digestibilidad *in vitro* por el método Pepsina-Celulasa y el contenido en lignina, que mostraron un coeficiente de correlación de igual magnitud en valor absoluto ( $0,57$ ;  $p < 0,0001$ ), pero de signo negativo para LAD. Comparada con estos parámetros, la técnica FND-Celulasa mostró, a este respecto, un poder predictivo ligeramente inferior ( $r = -0,52$ ;  $p < 0,0001$ ).

TABLA 12

**Matriz de correlaciones entre valores de digestibilidad *in vivo* e *in vitro* y parámetros analíticos de las muestras de ensilajes de maíz**  
*Correlations matrix among *in vivo* and *in vitro* digestibility values and analytical parameters of the maize silage samples*

		DMO	DE	DFND	DoTT	DoNDC	DoPC	MS	FND	FAD	LAD	CEL	FB	ALM	PB	EB
DMS	r	0,98	0,89	0,19	0,73	0,56	0,61	0,05	-0,37	-0,42	-0,60	-0,35	-0,46	0,21	0,15	-0,24
	p	<,0001	<,0001	n.s.	<,0001	<,0001	<,0001	n.s.	0,000	<,0001	<,0001	0,001	<,0001	n.s.	n.s.	0,024
DMO	r		0,91	0,28	0,71	0,52	0,57	0,03	-0,34	-0,39	-0,57	-0,33	-0,45	0,17	0,18	-0,24
	p		<,0001	0,007	<,0001	<,0001	<,0001	n.s.	0,001	0,000	<,0001	0,002	<,0001	n.s.	n.s.	0,025
DE	r			0,46	0,56	0,30	0,36	-0,09	-0,16	-0,17	-0,40	-0,12	-0,26	0,03	0,36	0,02
	p			<,0001	<,0001	0,004	0,001	n.s.	n.s.	0,0001	n.s.	0,016	n.s.	0,0006	n.s.	
DFND	r				-0,43	-0,45	-0,59	0,48	0,42	0,28	0,42	0,39	-0,53	0,62	0,34	
	p				n.s.	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	0,006	<,0001	0,000	<,0001	<,0001	0,001
DoTT	r					0,64	0,71	0,11	-0,35	-0,45	-0,63	-0,37	-0,51	0,22	-0,01	-0,32
	p					<,0001	<,0001	n.s.	0,001	<,0001	<,0001	0,0001	<,0001	0,039	n.s.	0,003
DoNDC	r						0,95	0,58	-0,89	-0,91	-0,79	-0,87	-0,75	0,72	-0,29	-0,42
	p						<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	0,005	<,0001
DoPC	r							0,55	-0,78	-0,85	-0,86	-0,79	-0,79	0,64	-0,34	-0,45
	p							<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	0,001	<,0001
MS	r								-0,73	-0,70	-0,45	-0,73	-0,65	0,82	-0,58	-0,46
	p								<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001
FND	r									0,95	0,62	0,95	0,71	-0,87	0,38	0,38
	p									<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	0,0002	0,0002
FAD	r										0,71	0,99	0,79	-0,83	0,39	0,39
	p										<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	0,0001	0,0002
LAD	r											0,63	0,62	-0,49	0,27	0,47
	p											<,0001	<,0001	0,0096	<,0001	<,0001
CEL	r												0,78	-0,85	0,41	0,39
	p												<,0001	<,0001	<,0001	0,0002
FB	r													-0,76	0,43	0,29
	p													<,0001	<,0001	0,006
ALM	r														-0,58	-0,34
	p														<,0001	0,001
PB	r															0,48
	p															<,0001
n		91	86	91	91	91	91	91	91	91	91	91	91	91	91	89

DMS, DMO, DE y DFND : digestibilidad *in vivo* de la materia seca, de la materia orgánica, de la energía y de la pared celular, respectivamente; DoTT, Do NDC y DoPC: digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica (métodos Tilley-Terry, FND-Celulosa y Pepsina-Celulosa, respectivamente); MS: contenido en materia seca (%); FND: Fibra neutro detergente (%MS); FAD: fibra ácido detergente (%MS); FB: fibra bruta (%MS); CEL: celulosa (%MS); LAD: lignina-sulfúrico (%MS); ALM: Almidón (%MS); PB: proteína bruta (%MS); EB: energía bruta (MJ kg<sup>-1</sup> MS); r: coeficiente de correlación; p: significación (n.s.: no significativa, p>0,05); n: número de muestras

Es interesante destacar que los valores de digestibilidad *in vitro* determinados por las dos técnicas de solubilidad enzimática mostraron una asociación muy superior con los componentes de la pared celular que con DMO, observándose un coeficiente de correlación  $r$  para la asociación de DoNDC con FND, FAD y LAD de  $-0,89$ ;  $-0,91$  y  $-0,79$ , respectivamente, mientras que los correspondientes a DoPC fueron de  $-0,78$ ;  $-0,85$  y  $-0,86$  con FND, FAD y LAD, respectivamente ( $p < 0,0001$ ). A este respecto, la correlación entre DoTT y estos parámetros fue sensiblemente inferior, con valores del coeficiente de correlación  $r$  de  $-0,35$ ;  $-0,45$  y  $-0,63$  para FND, FAD y LAD, respectivamente.

En la Tabla 13 se muestran los resultados de la determinación de la degradabilidad ruminal *in situ* de la materia seca de un conjunto de 46 muestras de la colección de ensilajes de planta entera de maíz, así como la correlación de los parámetros que describen la cinética de degradación en el rumen, el valor de la degradabilidad potencial y teórica (calculada para una tasa de paso de  $0,06 \text{ h}^{-1}$ ) y la desaparición de materia seca de las bolsas de nylon a diferentes tiempos de incubación.

TABLA 13

**Valores medios de parámetros de degradabilidad *in situ* de muestras de ensilajes de planta entera de maíz y su correlación con la digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica (DMO)**

*Mean values of in situ degradability parameters of whole-plant maize silages and their correlation with in vivo organic matter digestibility (DMO)*

	Constantes de degradación <sup>1</sup>			Coeficientes de Degradabilidad <sup>2</sup>		Porcentaje de desaparición de materia seca de las bolsas de nylon a diferentes tiempos de incubación								
	a	b	c	DP	DT	0 h	4 h	8 h	16 h	24 h	48 h	72 h	96 h	
Media	49,34	37,44	0,038	86,77	63,81	49,20	54,70	59,14	66,09	71,76	80,36	83,79	85,51	
s.d.	3,84	3,23	0,008	2,54	3,43	4,05	3,65	3,95	4,11	3,76	3,10	2,55	1,80	
Correlación con DMO														
	$r$	0,47	-0,14	0,24	0,52	0,60	0,43	0,55	0,52	0,52	0,58	0,64	0,69	0,56
	$p$	0,0011	n.s.	n.s.	0,0002	<0,0001	0,003	<0,0001	0,0002	0,0002	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,0013
	n	46	46	46	46	46	46	46	46	46	46	46	46	32

<sup>1)</sup> Constantes de degradabilidad: a=fracción inmediatamente degradable; b=fracción lentamente degradable; c=constante fraccional de la degradación de b en el rumen ( $\text{h}^{-1}$ ), obtenidas mediante ajuste de la ecuación  $p=a+b(1-e^{-ct})$ , de Ørskov y McDonald (1979)

<sup>2)</sup> DP: degradabilidad potencial:  $(a+b)$

DT: degradabilidad teórica, calculada para una tasa de paso  $k=0,06 \text{ h}^{-1}$  según  $DT=a + (bc/(c+k))$

s.d.: desviación estándar; r: coeficiente de correlación; p: significación (n.s.: no significativa,  $p > 0,05$ )

Como puede observarse, los resultados muestran la existencia de una asociación positiva y significativa de DMO con la fracción rápidamente degradable de la materia seca, la degradabilidad potencial y teórica y el porcentaje de materia seca desaparecido de las bolsas en todos los tiempos de incubación. La mayor correlación con DMO se observó para la tasa de desaparición a las 72 y 48 h, seguida de la degradabilidad teórica de la materia seca, con valores de  $r$  de  $0,69$ ;  $0,64$  y  $0,60$ , respectivamente ( $p < 0,0001$ ). Para este conjunto de muestras, los coeficientes de correlación entre DMO *in vivo* y los

valores de DoTT, DoNDC y DoPC fueron, respectivamente, de 0,72 ( $p < 0,0001$ ), 0,45 ( $p = 0,0016$ ) y 0,45 ( $p = 0,0016$ ), sugiriendo que la técnica *in situ* mostró un potencial predictivo intermedio entre el de la digestibilidad *in vitro* con inóculo ruminal y el de los métodos de solubilidad enzimática.

La mayor parte de la información obtenida de la bibliografía acerca de la predicción de digestibilidad *in vivo* de planta entera de maíz por métodos de laboratorio se refiere a plantas que han completado su ciclo normal de cultivo. Andrieu (1976) señala la existencia de correlaciones significativas entre la DMO y fibra únicamente cuando se consideran plantas con más del 28% MS o después de las 7 semanas de la floración femenina. Al dividir la muestra de ensilajes de planta entera estudiada en función del contenido en MS (corregida por pérdida de volátiles durante el secado en estufa) en dos grupos, utilizando el mismo criterio, se confirmó la ausencia de correlaciones significativas entre DMO y componentes de la pared celular, así como con los métodos enzimáticos DoNDC y DoPC para las 18 muestras de ensilajes de menos del 28% MS mientras que se observó una asociación significativa con DoTT, PB y EB ( $r = 0,66$ ;  $0,58$  y  $-0,47$ , respectivamente,  $p < 0,05$ ), como se puede observar en la Tabla 14.

Las correlaciones obtenidas en el grupo de 73 muestras con más del 28% MS<sub>c</sub> entre DMO y la digestibilidad *in vitro* determinada por métodos enzimáticos y componentes de la pared celular fueron ligeramente más elevadas comparadas con las obtenidas para la totalidad de la muestra, no siendo significativa la asociación entre DMO y los contenidos en proteína y energía bruta.

TABLA 14

**Matriz de correlaciones entre la digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica (DMO) y parámetros analíticos de las muestras de ensilajes de planta entera de maíz, en función del contenido en materia seca de las muestras**

*Correlations matrix among in vivo organic matter digestibility (DMO) and analytical parameters of the maize silage samples, depending on their dry matter content*

Colección de muestras		DoTT	DoNDC	DoPC	MS	FND	FAD	FB	CEL	LAD	ALM	PB	EB
MS <sub>c</sub> ≤ 28% (n=18)	r	0,66	0,20	0,43	-0,24	0,14	0,17	0,02	0,22	-0,42	-0,31	0,58	-0,47
	p	0,003	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,0118	0,047
MS <sub>c</sub> > 28% (n=73)	r	0,70	0,59	0,62	-0,14	-0,52	-0,56	-0,58	-0,51	-0,60	0,27	0,22	-0,09
	p	<0,0001	<0,0001	<0,0001	n.s.	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,0214	n.s.	n.s.

<sup>1</sup> MS<sub>c</sub>: materia seca corregida por pérdida de volátiles en estufa durante el secado (según Dulphy y Demarquilly, 1981)

DoTT, Do NDC y DoPC: digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica (métodos Tilley-Terry, FND-Celulosa y Pepsina-Celulosa, respectivamente); MS: contenido en materia seca (%); FND: Fibra neutro detergente (%MS); FAD: fibra ácido detergente (%MS); FB: fibra bruta (%MS); CEL: celulosa (%MS); LAD: lignina-sulfúrico (%MS); ALM: Almidón (%MS); PB: proteína bruta (%MS); EB: energía bruta (MJ kg<sup>-1</sup> MS);

r: coeficiente de correlación; p: significación (n.s.: no significativa,  $p > 0,05$ ); n: número de muestras

**Relación entre los valores de digestibilidad *in vivo* de la materia seca, de la materia orgánica y de la energía**

Para el conjunto de las 91 muestras de la colección, y tal como se indica en la Tabla 15, la digestibilidad de la materia orgánica *in vivo* alcanzó a explicar el 97% de la varianza de DMS, con un error mínimo de predicción en validación cruzada ( $RSD_{cv}$ ) de  $\pm 0,7$  unidades (%). A diferencia de lo observado para ensilajes de hierba, la inclusión del contenido en cenizas de la muestra en el modelo de predicción no fue significativa, lo que se explica por la escasa variación de dicho contenido en la planta de maíz.

Para las 86 muestras de las que se disponía del dato de digestibilidad *in vivo* de la energía, la DMO explicó el 83% de la variabilidad de aquella, porcentaje que se incrementó hasta el 92% cuando se incluía el contenido en energía bruta de las muestras en el modelo, obteniéndose valores de  $RSD_{cv}$  de 1,36 y 0,98, respectivamente.

TABLA 15

**Relación entre los valores de digestibilidad *in vivo* de la materia seca (DMS) materia orgánica (DMO) y energía bruta (DE) de ensilajes de planta entera de maíz**  
*Relationships between *in vivo* digestibility values of dry matter (DMS), organic matter (DMO) and gross energy (DE) of whole-plant maize silages*

Ecuación de predicción	Media	n	Calibración		Validación cruzada	
			$R^2_c$	$RSD_c$	$R^2_{cv}$	$RSD_{cv}$
DMS (%) = - 6,53 + 1,070 DMO s.e.: $\pm 1,5^{***}$ $\pm 0,02^{**}$	67,02	91	0,97 <sup>***</sup>	0,70	0,96 <sup>***</sup>	0,69
DE (%) = 6,32 + 0,875 DMO s.e.: $\pm 2,9^*$ $\pm 0,04^{***}$	66,54	86	0,83 <sup>***</sup>	1,32	0,82 <sup>***</sup>	1,36
DE (%) = - 38,70 + 0,957 DMO + 2,111 EB s.e.: $\pm 5,3^{***}$ $\pm 0,03^{***}$ $\pm 0,2^{***}$	66,54	86	0,92 <sup>***</sup>	0,94	0,90 <sup>***</sup>	0,98

p: significación del modelo (\*\*\*)  $p < 0,001$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*  $p < 0,05$ ; n,s.: no significativo  $p > 0,05$   
s.e.: error estándar del parámetro estimado

**Relación entre los valores de la digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica y el contenido en pared celular indigestible**

Tal y como se comentó anteriormente, existe una escasa correlación entre los valores de la digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica y de la pared celular de la planta entera de maíz, tanto para el conjunto de las muestras ( $r = 0,28$ ) como para el grupo con más del 27% de  $MS_c$  ( $r = 0,38$ ). Cuando se considera el contenido en pared celular indigestible (FNDI, en %MS) de las muestras, calculado como  $FNDI = FND \times (100 - DFND) / 100$ , donde FND se expresa en %MS y la digestibilidad de la pared celular DFND en %, el coeficiente de correlación entre DMO y FNDI es sensiblemente más elevado ( $r = -0,77$ ,  $p < 0,0001$ ) que el observado entre DMO y DFND.

La magnitud de dicha asociación se incrementa de forma considerable cuando se excluyen las 21 muestras en las que el contenido en FND de las heces producidas durante la evaluación de la digestibilidad *in vivo* se determinó con la técnica de bolsas filtrantes en el Fibre Analyzer de ANKOM. Para las 71 muestras restantes, el coeficiente de correlación entre DMO y FNDI es de  $r = -0,97$  ( $p < 0,0001$ ), indicando que FNDI es un potente predictor de la digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica de las muestras de ensilaje.

Sin embargo, como se muestra en la Tabla 16, elaborada a partir de las 71 muestras en las que el contenido en FND del alimento ofrecido y de las heces se determinó por el mismo método, la concentración de FNDI no se predice satisfactoriamente a partir de los valores de digestibilidad *in vitro* ni de la composición química de la muestra. La correlación entre el valor de fibra neutro detergente no solubilizada durante el ataque con celulasa en el método FND-Celulasa (FNDIo) y FNDI fue escasa aunque significativa ( $r = -0,50$ ;  $p < 0,0001$ ), e inferior a la encontrada para los valores DoTT ( $r = -0,64$ ). La asociación entre FNDI y los parámetros obtenidos en la determinación de la degradabilidad *in situ* de la materia seca fue asimismo reducida, como muestra el bajo valor de  $r$  (-0,39) para la desaparición de materia seca de las bolsas a las 72 h de incubación, que fue el parámetro que mostró la mayor correlación, en valor absoluto, con FNDI. Por otra parte, como era de esperar, ninguno de los posibles predictores de DMO mostró un grado de asociación con FNDI superior al exhibido con la digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica.

**TABLA 16**

**Correlación entre el contenido en pared celular indigestible (FNDI) y valores de digestibilidad *in vivo* e *in vitro*, desaparición de materia seca de las bolsas incubadas *in situ* 72 h y composición química de ensilajes de planta entera de maíz**

*Correlation between the content in indigestible cell-wall (FNDI) of whole-plant maize silages and their values of in vivo and in vitro digestibility, disappearance of dry matter from bags incubated 72 h in situ and chemical composition*

	Coeficientes de digestibilidad <i>in vivo</i>				Métodos <i>in vitro</i> e <i>in situ</i>					
	DMS	DMO	DE	DFND	DoTT	DoNDC	FNDIo	DoPC	D72	
<i>r</i>	-0,93	-0,97	-0,90	-0,56	-0,64	-0,45	0,50	-0,49	-0,39	
<i>p</i>	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	0,006	

	Composición química									
	MS	CZ	FND	FAD	LAD	CEL	FB	ALM	PB	EB
<i>r</i>	0,08	-0,19	0,30	0,36	0,56	0,31	0,39	-0,11	-0,32	0,10
<i>p</i>	<i>n.s.</i>	<i>n.s.</i>	0,012	0,0021	<,0001	0,008	0,0009	<i>n.s.</i>	0,0077	<i>n.s.</i>

DMS, DMO, DE y DFND: digestibilidad *in vivo* de las materia seca, materia orgánica, energía bruta y pared celular, respectivamente.

DoTT, Do NDC y DoPC: digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica (métodos Tilley-Terry, FND-Celulasa y Pepsina-Celulasa, respectivamente). D72: porcentaje de desaparición de la materia seca de las bolsas incubadas *in situ* durante 72 h

MS: contenido en materia seca (%); FND: Fibra neutro detergente (%MS); FAD: fibra ácido detergente (%MS); FB: fibra bruta (%MS); CEL: celulosa (%MS); LAD: lignina-sulfúrico (%MS); ALM: Almidón (%MS); PB: proteína bruta (%MS); EB: energía bruta (MJ kg<sup>-1</sup> MS);

*r*: coeficiente de correlación; *p*: significación (*n.s.*: no significativa,  $p > 0,05$ )

***Modelos de regresión para la estimación de la digestibilidad in vivo de la materia orgánica de ensilajes de planta entera de maíz***

En las Tablas 17a y 17b se muestran los estadísticos de regresión obtenidos para el total de muestras de la colección y para el conjunto de 73 muestras con un contenido en MS<sub>c</sub> superior al 28% a partir de los diferentes modelos que incluyen digestibilidad *in vitro* y parámetros químicos como predictores. Las correspondientes ecuaciones de regresión se ordenan dentro de cada grupo en orden creciente de varianza explicada por el modelo en el proceso de validación cruzada ( $R^2_{cv}$ ), incluyéndose la varianza explicada en calibración ( $R^2_c$ ) y los errores mínimos de predicción en ambos procesos ( $RSD_{cv}$  y  $RSD_c$ , respectivamente).

Para el total de muestras de la colección, la digestibilidad *in vitro* con líquido ruminal permitió explicar el 49% de la varianza de DMO cuando se incluía como único predictor, obteniéndose un error mínimo de predicción en validación cruzada de  $\pm 2,39$  unidades (%). La inclusión de otras variables en el modelo, como el contenido en proteína bruta y cenizas permitió mejorar ligeramente la calidad de la estimación de DMO, explicándose el 56% de su variabilidad con un  $RSD_{cv}$  de  $\pm 2,33$ .

Las ecuaciones de regresión con DoPC y DoNDC mostraron coeficientes de determinación en calibración ( $R^2_c$ ) de 0,27 y 0,23 y errores mínimos de predicción en validación cruzada de  $\pm 2,77$  y  $\pm 2,87$ , respectivamente. La inclusión de PB como segundo predictor permitió mejorar la precisión de las estimaciones de DMO comparada con la mostrada por los modelos basados en la solubilidad enzimática como única variable, obteniéndose valores de  $R^2_c$  y  $RSD_{cv}$  de 0,48 y  $\pm 2,45$  para el modelo con DoPC y PB, por una parte, y de 0,39 y  $\pm 2,64$  para el que incluía DoNDC y PB como variables independientes.

Todos los modelos que contenían únicamente parámetros químicos como predictores presentaron menores porcentajes de varianza explicada y errores mínimos de predicción en el procedimiento de validación cruzada más elevados que cualquiera de los modelos que incluían valores de digestibilidad *in vitro* con líquido ruminal (DoTT) como predictor. Sin embargo los modelos de una sola variable basados en la solubilidad enzimática no mejoraron la capacidad predictiva del contenido en LAD ( $R^2_c=0,32$ ,  $RSD_{cv}=\pm 2,77$ ). La ecuación de regresión con LAD y PB como variables independientes ( $R^2_c=0,44$ ,  $RSD_{cv}=\pm 2,54$ ) mostró una precisión intermedia entre la obtenida por el modelo que incluía el contenido en PB junto con DoPC y el que utilizaba PB y DoNDC como predictores, los cuales fueron superados, a este respecto, por el modelo con LAD, PB y FB ( $R^2_c=0,51$ ,  $RSD_{cv}=\pm 2,43$ ).

Considerando únicamente las muestras con un contenido en  $MS_c$  mayor del 28%, la precisión de las estimaciones de la digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica mejoró ligeramente respecto a la obtenida por los diferentes modelos para el conjunto de la colección, si bien se mantuvieron las tendencias anteriormente descritas en cuanto a la superioridad de las estimaciones basadas en la digestibilidad *in vitro* con líquido ruminal en términos de varianza explicada y error mínimo de predicción.

Los modelos basados en DoTT mostraron valores de  $RSD_{cv}$  que oscilaron entre  $\pm 2,38$  y  $\pm 2,12$  para el de una sola variable y el que incluía, además de DoTT, los contenidos en PB y LAD como predictores. Para los basados en la solubilidad enzimática el error mínimo de predicción en validación cruzada osciló entre  $\pm 2,61$  y  $\pm 2,42$  para el método Pepsina Celulasa y entre  $\pm 2,67$  y  $\pm 2,57$  para FND-Celulasa, en regresiones de una sola variable y cuando se incluía PB como segundo predictor, respectivamente. La baja precisión de los métodos enzimáticos para la estimación de DMO de la planta entera de maíz es puesta de manifiesto por Aufrère *et al.* (1992), quienes indican que la digestibilidad enzimática está más correlacionada con el contenido en pared celular que con la DMO, lo cual se ve confirmado con lo observado en el presente estudio.

Los valores de  $RSD_{cv}$  para los modelos basados en parámetros químicos exclusivamente oscilaron entre  $\pm 2,84$  y  $\pm 2,32$ , respectivamente, para el que tenía FND como única variable y el que incluía los contenidos de LAD, FB y PB como predictores.

TABLA 17a

**Ecuaciones seleccionadas para la predicción de la digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica de ensilajes de planta entera de maíz (todas las muestras)**

*Selected equations for the prediction of in vivo organic matter digestibility of whole-plant maize silages (all samples of the collection)*

Ecuación de predicción	DMO <i>in vivo</i> %	n	Calibración		Validación cruzada	
			R <sup>2</sup> <sub>c</sub>	RSD <sub>c</sub>	R <sup>2</sup> <sub>cv</sub>	RSD <sub>cv</sub>
<b>a) Modelos que incluyen digestibilidad <i>in vitro</i> como predictor</b>						
DMO= 43,73 + 0,378 DoNDC s.e. ±4,3*** ±0,06***	68,69	91	0,27***	2,82	0,23***	2,87
DMO= 44,23 + 0,374 DoPC s.e. ±3,7*** ±0,05***	68,69	91	0,32***	2,72	0,29***	2,77
DMO= 31,78 + 0,455 DoNDC + 1,017 PB s.e. ±4,8*** ±0,06*** ±0,24***	68,69	91	0,39***	2,59	0,35***	2,64
DMO= 30,09 + 0,469 DoPC + 1,182 PB s.e. ±4,2*** ±0,05*** ±0,24***	68,69	91	0,48***	2,39	0,44***	2,45
DMO= 16,37 + 0,699 DoTT s.e. ±5,5** ±0,07***	68,69	91	0,49***	2,34	0,47***	2,39
DMO= 12,77 + 0,701 DoTT + 0,516 PB s.e. ±5,5* ±0,07*** ±0,20*	68,69	91	0,53***	2,27	0,49***	2,33
DMO= 17,70 + 0,660 DoTT + 0,644 PB - 0,706 CZ s.e. ±5,8** ±0,07*** ±0,20* ±0,29*	68,69	91	0,56***	2,21	0,50***	2,33
<b>b) Modelos que sólo incluyen parámetros químicos como predictores</b>						
DMO= 72,54 - 0,439 FAD + 1,083 PB s.e. ±2,1*** ±0,08*** ±0,27***	68,69	91	0,27***	2,83	0,23***	2,89
DMO= 76,96 - 3,608 LAD s.e. ±1,2*** ±0,51***	68,69	91	0,32***	2,71	0,29***	2,77
DMO= 73,20 - 0,569 FB + 1,270 PB s.e. ±1,9*** ±0,08*** ±0,26***	68,69	91	0,36***	2,65	0,32***	2,70
DMO= 71,61 - 4,217 LAD + 0,972 PB s.e. ±1,6*** ±0,51*** ±0,23***	68,69	91	0,44***	2,47	0,40***	2,54
DMO= 74,06 - 3,052 LAD + 1,276 PB - 0,303 FB s.e. ±1,7*** ±0,60*** ±0,23*** ±0,09***	68,69	91	0,51***	2,34	0,45***	2,43

Significación del modelo: \*\*\* p<0,001; \*\* p<0,01; \* p<0,05; n.s.: no significativo (p>0,05)

s.e.: error estándar del parámetro estimado

n: número de muestras

R<sup>2</sup>: coeficiente de determinación

RSD: desviación estándar residual

TABLA 17b

**Ecuaciones seleccionadas para la predicción de la digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica de ensilajes de planta entera de maíz cosechadas en condiciones normales de madurez (materia seca<sup>1</sup>>28%)**

*Selected equations for the prediction of in vivo organic matter digestibility of whole-plant maize silages harvested in normal maturity conditions (dry matter<sup>1</sup>>28%)*

Ecuación de predicción	DMO <i>in vivo</i> %	n	Calibración		Validación cruzada	
			R <sup>2</sup> <sub>c</sub>	RSD <sub>c</sub>	R <sup>2</sup> <sub>cv</sub>	RSD <sub>cv</sub>
<b>a) Modelos que incluyen digestibilidad <i>in vitro</i> como predictor</b>						
DMO= 35,20 + 0,501 DoNDC s.e. ±5,4*** ±0,08***	68,97	73	0,35***	2,62	0,31***	2,67
DMO= 38,02 + 0,464 DoPC s.e. ±4,7*** ±0,07***	68,97	73	0,37***	2,56	0,34***	2,61
DMO= 29,35 + 0,513 DoNDC + 0,779 PB s.e. ±5,6*** ±0,07*** ±0,27**	68,97	73	0,41***	2,50	0,36***	2,57
DMO= 28,87 + 0,504 DoPC + 1,004 PB s.e. ±4,9*** ±0,06*** ±0,26***	68,97	73	0,48***	2,35	0,44***	2,42
DMO= 16,10 + 0,703 DoTT s.e. ±6,3* ±0,08***	68,97	73	0,49***	2,31	0,46***	2,38
DMO= 0,850 DoTT + 0,778 PB s.e. ±0,02*** ±0,24**	68,97	73	(1)	2,25	0,52***	2,30
DMO= 32,51 + 0,483 DoTT + 0,860 PB - 2,513 LAD s.e. ±7,9*** ±0,09*** ±0,23*** ±0,66***	68,97	73	0,62***	2,03	0,57***	2,12
<b>b) Modelos que sólo incluyen parámetros químicos como predictores</b>						
DMO= 88,25 - 0,457 FND s.e. ±3,7*** ±0,08***	68,97	73	0,26***	2,78	0,22***	2,84
DMO= 84,76 - 0,658 FAD s.e. ±2,5*** ±0,11***	68,97	73	0,30***	2,70	0,27***	2,75
DMO= 84,01 - 0,692 FB s.e. ±2,5*** ±0,11***	68,97	73	0,33***	2,65	0,30***	2,70
DMO= 78,05 - 4,215 LAD s.e. ±1,4*** ±0,66***	68,97	73	0,36***	2,59	0,32***	2,65
DMO= 80,05 - 0,689 FAD + 0,845 PB s.e. ±3,1*** ±0,11*** ±0,28***	68,97	73	0,38***	2,57	0,33***	2,63
DMO= 79,15 - 0,729 FB + 0,874 PB s.e. ±2,8*** ±0,10*** ±0,28***	68,97	73	0,41***	2,50	0,37***	2,56
DMO= 72,30 - 4,634 LAD + 1,035 PB s.e. ±2,0*** ±0,61*** ±0,26***	68,97	73	0,47***	2,37	0,42***	2,45
DMO= 78,50 - 3,257 LAD + 1,044 PB - 0,425 FB s.e. ±2,4*** ±0,67*** ±0,24*** ±0,11***	68,97	73	0,56***	2,18	0,48***	2,32

<sup>1</sup> Materia seca corregida por pérdida de volátiles en estufa durante el secado (según Dulphy y Demarquilly, 1981)

Significación del modelo: \*\*\* p<0,001; \*\* p<0,01; \* p<0,05; n.s.: no significativo (p>0,05)

s.e.: error estándar del parámetro estimado

n: número de muestras

R<sup>2</sup>: coeficiente de determinación

RSD: desviación estándar residual

Para las 46 muestras de ensilaje de planta entera de maíz en las que se determinó la degradabilidad *in situ* de la materia seca se realizó la comparación de la capacidad predictiva de la digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica de los mejores modelos basados en la digestibilidad *in vitro* con líquido ruminal y en el porcentaje de desaparición de MS de las bolsas de nylon incubadas en el rumen durante 72 h (D72), cuyos resultados se muestran en la Tabla 17c.

TABLA 17C

**Capacidad predictiva de modelos basados en la digestibilidad *in vitro* con líquido ruminal y en el porcentaje de la desaparición de materia seca de muestras incubadas *in situ* durante 72 h para la estimación de DMO de ensilajes de planta entera de maíz**

*Predictive ability of models based on in vitro digestibility with rumen liquor and on the percentage of disappearance of dry matter from bags incubated in vitro 72 h for the estimation of DMO of whole-plant maize silages*

Ecuación de predicción	DMO <i>in vivo</i>		Calibración		Validación cruzada	
	%	n	R <sup>2</sup> <sub>c</sub>	RSD <sub>c</sub>	R <sup>2</sup> <sub>cv</sub>	RSD <sub>cv</sub>
DMO= 0,817 D72 s.e. ±0,003***	68,51	46	(1)	2,21	0,45***	2,26
DMO= 0,914 DoTT s.e. ±0,004***	68,51	46	(1)	2,18	0,50***	2,23
DMO= 0,856 DoTT + 0,669 PB s.e. ±0,02*** ±0,23**	68,51	46	(1)	2,02	0,55***	2,09
DMO= -39,27 + 1,273 D72 + 0,487 FAD - 0,323 MS s.e. ±16,8* ±0,16*** ±0,18* ±0,06***	68,51	46	0,68***	1,77	0,62***	1,90

(1) recta forzada a pasar por el origen de coordenadas

p: significación del modelo (\*\*\*) p<0,001; \*\* p<0,01; \* p<0,05; n.s.: no significativo p>0,05)

s.e.: error estándar del parámetro estimado

n: número de muestras; R<sup>2</sup>: coeficiente de determinación; RSD: desviación estándar residual

El modelo de una sola variable basado en DoTT explicó el 50% de la varianza de DMO en validación cruzada, porcentaje que se redujo al 45% para el basado en la desaparición de la materia seca a las 72 h, si bien el error mínimo de predicción RSD<sub>cv</sub> obtenido por dichos modelos fue semejante (±2,23 y ±2,26, respectivamente). La precisión de la estimación de DMO obtenida, en este conjunto de muestras, por el modelo que incluía DoTT y PB como predictores (R<sup>2</sup><sub>cv</sub> = 0,55 y RSD<sub>cv</sub> = ±2,09), fue superada por una ecuación de regresión que tenía como variables independientes los contenidos en FAD y MS junto a D72 (R<sup>2</sup><sub>cv</sub> = 0,62 y RSD<sub>cv</sub> = ±1,90).

Estos resultados sugieren la utilidad de la técnica *in situ* para la estimación de DMO, si bien el escaso número de muestras utilizado no permite juzgar acerca de su superioridad respecto a la técnica de digestibilidad *in vitro* con líquido ruminal para este propósito.

## DISCUSIÓN

### **Composición química y digestibilidad in vivo de la materia orgánica de las colecciones de ensilajes de hierba y maíz**

Como indica Van Soest (1993), la fiabilidad de los modelos de estimación del valor nutritivo de los forrajes para su utilización práctica depende, fundamentalmente, de la existencia de suficiente variabilidad en la colección de base, que debe reflejar el balance de especies y las condiciones de medio características de los forrajes objeto de la predicción. En este sentido, la diferente procedencia de las muestras de los ensilajes de hierba y maíz y su obtención de forma más o menos regular a lo largo de diferentes años (más de 15 en el caso de los ensilajes de hierba y 7 en el caso de los ensilajes de maíz), así como las características de aquellas en cuanto a la diversidad de especies o genotipos y de la tecnología de producción y manejo incorpora a la colección una amplia variabilidad que sin duda contribuye a la robustez de los modelos predictivos.

#### ***a) Ensilajes de hierba***

La realización de las evaluaciones *in vivo* a partir de 1991 y hasta 2002 se fue efectuando en conexión con un estudio cuyo objetivo era la caracterización de los ensilajes de hierba producidos en explotaciones lecheras gallegas, en el que anualmente se estudiaban alrededor de 250 explotaciones y unos 650 silos de media (Flores *et al.*, 2002a). La selección de los ensilajes a evaluar *in vivo* cada año se realizaba a partir de los resultados del análisis de las muestras tomadas en las explotaciones en cada campaña y de sus características en cuanto al tipo de pasto, número de corte y metodología de realización del ensilado. Los valores de la colección de muestras de ensilaje de hierba de digestibilidad *in vivo* conocida utilizados en el presente trabajo son comparables, en cuanto al rango de variación de los contenidos en MS (13,2 a 76,0%), PB (6,0 a 24,4% MS) y FAD (23,9 a 51,7% MS) a los obtenidos en el estudio anteriormente citado, que fue de 12,0 a 60,0% para el contenido en materia seca, de 6,9 a 23,0% MS para el de proteína bruta y de 24,5 a 55,8 para el de fibra ácido detergente (%MS). Sin embargo el contenido medio en cenizas para los ensilajes de las explotaciones lecheras fue más bajo y su rango de variación más reducido que para la colección de muestra evaluadas *in vivo* (10,5, rango 7,0 a 15,0 y 11,5, rango 6,4 a 31,6, respectivamente) debido a la presencia en este último grupo de algunas muestras cosechadas por corte directo, obtenidas en situación experimental, y que mostraban un cierto grado de contaminación por tierra. En otro conjunto de 850 muestras de ensilaje de hierba analizadas en el Laboratorio Agrario de Mabegondo en el año 2002, enviadas por ganaderos gallegos, el valor medio (y rango

de variación) del contenido en MS fue de 22,3 (12,8 a 66,3)%, y la concentración de CZ, PB y FAD (%MS) fue, respectivamente, de 10,6 (4,4 a 22,2), 13,0 (6,3 a 23,9) y 35,0 (25,3 a 48,8).

Las numerosas diferencias en cuanto al tipo de especies pratenses utilizadas, condiciones ambientales y de manejo, así como de técnicas analíticas utilizadas, en algunos casos, dificulta la comparación de los valores medios de la colección de ensilajes de hierba de digestibilidad *in vivo* conocida con los obtenidos por otros autores en diferentes situaciones. Comparado con el valor medio de DMO que figura en las tablas del MAFF (1987) para ensilajes de raigrás inglés ( $72,7 \pm 6,2$ , rango 53,0 a 83,6,  $n=102$  muestras), nuestra colección presenta un valor inferior ( $67,8 \pm 6,7$ , rango 48,5 a 81,0). Si bien el contenido medio en FND (expresado sobre MS corregida por pérdida de volátiles en estufa, MS<sub>c</sub>) fue muy parecido, la concentración media de FAD y de LAD fue superior en la colección del CIAM, comparada con los valores medios del MAFF (FND: 51,4 y 52,5; FAD: 31,8 y 31,9; LAD: 6,1 y 5,6 en %MS<sub>c</sub>). La superior lignificación de la pared celular en las muestra del CIAM comparada con la del MAFF (11,7 y 10,6%, respectivamente), podría explicar, al menos parcialmente, el menor valor medio de DMO en nuestro caso.

El contenido medio en EB (MJ kg<sup>-1</sup> MS corregida en estufa) de las muestras de ensilaje del CIAM fue inferior al indicado en las tablas del MAFF (medias de  $18,4 \pm 0,97$  y  $19,0 \pm 1,4$ , respectivamente). Sin embargo, dado el mayor contenido medio en cenizas en el primer caso (10,9 frente a 8,7 %MS<sub>c</sub>), cuando se expresa el valor de EB sobre materia orgánica los contenidos fueron semejantes (20,7 y 20,8 MJ kg<sup>-1</sup> MO) y coincidentes con el valor medio indicado en las Tablas de alimentación del INRA (Andrieu *et al.*, 1989) para ensilajes de hierba (20,8 MJ kg<sup>-1</sup> MO).

### **b) Ensilajes de maíz**

Para la colección de ensilajes de maíz, los valores medios obtenidos variaron en un rango más estrecho, en general, que lo observado para los ensilajes de hierba, reflejando no sólo la menor diversidad genética de las variedades de maíz cultivadas para forraje comparadas con las especies y variedades pratenses, sino también la mayor uniformidad en cuanto al manejo del cultivo en cuanto a estado de madurez y técnica de ensilado y a la característica evolución de las diferentes fracciones de la planta de maíz y la digestibilidad con el avance hacia la madurez. Resultados de más de 1500 análisis de ensilajes de maíz producidos en explotaciones ganaderas gallegas realizados en el Laboratorio Agrario de Mabegondo en los últimos años (M. Cardelle, comunicación personal) muestran valores medios del contenido en MS (%) de  $31,2 \pm 3,7$  y una concentración (expresada en %MS) de CZ, FND, FAD, FB, PB y almidón de  $3,6 \pm 0,7$ ;

44,5±4,3; 24,8±3,3; 20,9±2,8; 7,7±0,7 y 25,3±5,7. Los valores medios de los 91 ensilajes de la colección utilizados en el presente trabajo son muy semejantes a los descritos, si bien la variación es algo más elevada en consonancia con la diversidad de épocas de recolección que recoge la colección, y que abarca desde fechas cercanas a la floración femenina hasta el estado de madurez fisiológica de la planta (MS: 30,3±5,06, CZ: 3,9±0,8, FND: 44,1±6,0, FAD: 25,3±4,0, FB: 22,9±3,7, PB: 6,7±1,1 y almidón: 26,2±8,3). En las Tablas de alimentación del INRA (Andrieu *et al.*, 1989) se indican, para el ensilaje de maíz cosechado entre el estado lechoso-pastoso y el vítreo, valores de MS que oscilan entre el 25 y 35% y concentraciones medias (en %MS) de CZ: 4,7 a 6,3, PB: 8,2 a 8,6, FAD: 21,2 a 24,8, FB: 18,7 a 22,2, mientras que para la digestibilidad de la materia orgánica se adopta un único valor del 71% y el contenido en EB (MJ kg<sup>-1</sup> MS) varía de 18,4 a 18,7. El rango de variación encontrado en las muestras de la colección del CIAM es más amplio, reflejando la mayor amplitud de fechas de cosecha, con valores extremos de 16,3 y 45,0% para MS<sub>c</sub> y, expresados sobre materia seca corregida por pérdida de volátiles, concentraciones medias (en %MS<sub>c</sub>) de CZ: 2,8 a 8,4, PB: 3,8 a 12,4 y FAD: 19,1 a 42,1, mientras que el contenido en EB (MJ kg<sup>-1</sup> MS<sub>c</sub>) osciló entre 17,5 y 20,6, cuyo valor medio 18,7 es muy semejante al de las tablas francesas.

El valor medio de DMO en nuestra colección (68,6%), resulta ser inferior al referido por otros autores europeos, como Givens *et al.* (1995), quienes, para 106 ensilajes de maíz procedentes de diferentes localidades europeas indican un valor medio de digestibilidad *in vivo* de 71,2%, y un rango de 55,7 a 80,0%. En un trabajo realizado en Francia, Andrieu (1976), para 122 ensilajes de maíz procedentes de 15 variedades cultivadas en distintas localidades obtiene un valor de DMO medio de 70,1%, con rango 59,5-76,0 el cual es muy semejante al observado en nuestro trabajo (59,1 a 76,8%). De Boever *et al.* (1999) y Andrieu *et al.* (1999), para colecciones belgas (n=50) y francesas (n=150), indican valores medios de digestibilidad *in vivo* de planta entera de maíz (ensilada y fresca, respectivamente), de 74,7 y 72,1%, respectivamente. Se destaca la similitud de los valores medios de dichas colecciones y la del CIAM en cuanto al contenido de FND (44,0; 46,7 y 44,1 %MS) y LAD (2,3; 2,6 y 2,3), colecciones belga, francesa y CIAM, respectivamente. Sin descartar los posibles efectos de los genotipos utilizados en los respectivos estudios, esta circunstancia podría poner de manifiesto la influencia de factores ambientales que modificasen la relación entre componentes de la pared celular y DMO. Este hecho es corroborado por Aufrère *et al.* (1992), quienes llaman la atención sobre la escasa relación existente, para el caso de planta entera de maíz, entre el contenido en lignina de la pared celular y la digestibilidad de la misma, a diferencia de lo que ocurre para otros forrajes. En nuestro trabajo fue obtenida una baja correlación entre la digestibilidad *in vivo* de la pared celular (DFND) y el contenido en lignina ( $r = 0,28$ ), lo que coincide con lo indicado por dichos autores.

## Relación entre DMO y parámetros químicos

En concordancia con lo observado por numerosos autores (Minson, 1982; Weiss, 1994; entre otros) se observa, tanto para la colección de ensilajes de hierba como para la de planta entera de maíz, que las fracciones de la materia seca con mayor grado de correlación son los constituyentes de la pared celular, estando asociados negativamente con DMO.

### a) *Ensilajes de hierba*

Para las muestras de ensilaje de hierba, el valor del coeficiente de correlación  $r$  osciló entre  $-0,66$  para FND y  $-0,36$  para CEL, siendo observada una asociación positiva entre DMO y el contenido en proteína bruta, ligeramente más elevada que para el contenido en FND ( $r = 0,67$ ). En teoría, según indican Kitessa *et al.* (1999) la capacidad predictiva debería aumentar cuando la fracción de la pared celular que se utiliza como variable independiente en la regresión se refiere al constituyente más indigestible, esto es, el contenido en LAD debería ser un mejor estimador de DMO que el contenido en FAD, y éste a su vez mejor que el contenido en FND. Sin embargo, nuestros resultados para los ensilajes de hierba contradicen esta observación, toda vez que la correlación de DMO y el contenido en LAD fue más débil ( $r = -0,37$ ) que para cualquier otro constituyente de la pared celular, salvo el contenido en celulosa. La información proporcionada por diversos autores a este respecto es variable. Givens *et al.* (1989), para una colección de 124 ensilajes de gramíneas de digestibilidad *in vivo* conocida obtenido en el Reino Unido, indica que la mejor correlación de DMO con parámetros químicos se obtenía para el contenido en FND ( $r = -0,67$ ), siendo ésta muy semejante a la obtenida en nuestro trabajo, seguida del de FAD, LAD y CEL ( $r = -0,56$ ;  $-0,47$  y  $-0,56$ ), respectivamente. En contraste, De Boever *et al.* (1996) encuentran que la correlación más elevada entre un parámetro químico y DMO de 64 ensilajes de hierba era obtenida con la concentración de LAD, que explicaba el 53% de la varianza de la digestibilidad, sugiriendo que los resultados de Givens (1989) podrían atribuirse a una baja repetibilidad de la determinación de LAD. Por su parte Barber *et al.* (1984), para una colección de 80 ensilajes de gramíneas, encuentra correlaciones similares entre la digestibilidad *in vivo* y los contenidos en FAD y FND ( $r = -0,69$  y  $-0,67$ ), mientras que otros autores, entre ellos Nousiainen *et al.* (2003), para 53 ensilajes de primer y segundo corte de dos especies gramíneas cultivadas en la misma localidad, encuentran una asociación más elevada entre el contenido en LAD y DMO que para cualquier parámetro de composición química, a excepción del contenido en proteína bruta ( $r = -0,65$ ;  $-0,60$ ;  $-0,60$ ;  $-0,54$  y  $0,69$  para LAD, FAD, FND, CEL y PB, respectivamente), indicando que, debido al efecto de factores ambientales, la digestibilidad puede variar sin que se observe un cambio consistente en las fracciones usadas como predictores, por lo que el orden de

las diferentes fracciones analíticas, en cuanto a su contribución a la varianza explicada de DMO, puede cambiar en diferentes ambientes, incluso para el mismo grupo de forrajes. Es interesante destacar que, en nuestro estudio, cuando se incluía el efecto año como covariable en un modelo de predicción basado en FND como única variable, no se observaron efectos significativos sobre ninguno de los coeficientes de regresión, lo que evidencia la constancia de la relación entre FND y DMO en los distintos años. Cuando se realizaba este análisis sobre el modelo que contenía FND y el grado de lignificación de la pared celular (LAD/FND) se obtenía un efecto año significativo sobre el intercepto y sobre la pendiente de LAD/FND pero no sobre la pendiente de FND.

### **b) Ensilajes de maíz**

La predicción de la digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica de los ensilajes de maíz a partir de la composición química de la planta, y más concretamente de su contenido en fibra, se ve dificultada por la escasa correlación existente entre ambas, lo que conduce al establecimiento de ecuaciones cuyo poder predictivo es, en general, mediocre e inferior al obtenido para las mismas fracciones en la predicción de DMO de ensilajes de hierba. En el trabajo de Andrieu (1976), se señala la ausencia de correlaciones significativas entre la DMO de las plantas de maíz normalmente desarrolladas y los valores de fibra bruta, materia seca, porcentaje de mazorca y número de días tras la floración femenina. Sin embargo, cuando se consideran sólo aquellas plantas cosechadas a partir de los 40 días de la floración, existen correlaciones significativas con el contenido en fibra bruta ( $r = -0,45$ ) y el porcentaje de mazorca. Este trabajo fue la base de las primeras ecuaciones del INRA (1981), válidas únicamente para ensilajes recolectados con más del 28% MS o después de los 50 días tras la floración femenina. Estas ecuaciones serían posteriormente revisadas (INRA, 1987) para tener en cuenta la pérdida de energía bruta por componentes volátiles durante el secado de la muestra. En nuestro trabajo comprobamos la ausencia de correlaciones significativas entre DMO y los componentes de la pared celular para las muestras cuyo contenido en MS corregida por pérdida de volátiles en estufa era menor del 28%, para las cuales únicamente el contenido en PB y EB se evidenciaron significativas ( $r = 0,58$  y  $-0,47$ , respectivamente), mientras que para las muestras con un contenido en materia seca superior se observaba una asociación significativa entre DMO y los contenidos en FND, FAD, FB, CEL y LAD ( $r = -0,52$ ;  $-0,56$ ;  $-0,58$ ;  $-0,51$  y  $-0,60$ , respectivamente), no siendo significativa para los contenidos de almidón y materia seca, lo que indica la relativa independencia de la digestibilidad de la materia orgánica de la planta entera de maíz con el avance de la madurez, aspecto que ha sido señalado por otros autores (Russell *et al.*, 1992; McAllan y Phipps, 1977; Demarquilly, 1994).

Deinum *et al.* (1984) obtienen, en Holanda, correlaciones significativas entre DMO y fibra bruta ( $r = -0,88$ ;  $RSD=3,0$ ) si bien a partir de un reducido número de muestras. Cuando comparan ecuaciones holandesas con las utilizadas en Bélgica, Aerts *et al.* (1977) observan acusadas diferencias en los resultados, especialmente para aquellas muestras con un contenido en fibra bruta superior al 20%, a pesar de que las ecuaciones habían sido obtenidas sobre poblaciones con rangos semejantes de digestibilidad y FB, concluyendo que la divergencia observada podía deberse a factores de localidad, fecha de cosecha y clima, aparte del método de análisis de la fibra bruta.

Otros trabajos más recientes hacen asimismo hincapié en el mismo aspecto. Aufrère *et al.* (1992), obtienen correlaciones significativas entre DMO y diversos componentes de la pared celular, oscilando los valores del coeficiente de correlación  $r$  entre  $-0,65$  e  $-0,50$  para lignina y fibra bruta, respectivamente, muy semejantes a los obtenidos en nuestro trabajo. Givens *et al.* (1995), utilizando 4 colecciones de ensilajes de maíz (dos del Reino Unido, una de Bélgica y otra de Holanda), obtiene correlaciones de  $-0,68$ ;  $-0,66$  y  $-0,65$  para los predictores FAD, FND y FB, con valores de RSD que oscilaban entre  $\pm 3,1$  y  $\pm 3,3$ .

### **Relación entre DMO y determinaciones *in vitro***

Es general la opinión sobre la mejora que supone la utilización de métodos *in vitro* para la estimación de DMO en forrajes, tanto los basados en la utilización de líquido ruminal como los métodos de solubilidad enzimática, dado que, mientras que la asociación estadística entre los parámetros químicos y la digestibilidad no representa los fenómenos biológicos que ocurren en la digestión, estas técnicas están diseñadas para simular los procesos implicados en la digestión de los alimentos en el tracto digestivo del rumiante (Kitessa *et al.*, 1999).

#### **a) Ensilajes de hierba**

Para la colección de ensilajes de hierba, la varianza de DMO explicada por los diferentes métodos *in vitro* estudiados fue claramente superior a la obtenida a partir de parámetros químicos, siendo obtenida una alta correlación entre la digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica de las muestras y los correspondientes valores de digestibilidad *in vitro* con líquido ruminal (DoTT,  $r = 0,86$ ), ligeramente superior a la observada para la solubilidad enzimática de la materia orgánica por el método FND-Celulasa (DoNDC,  $r = 0,83$ ). La técnica Pepsina-Celulasa (DoPC) también permitió obtener una buena correlación entre los valores *in vitro* y DMO ( $r = 0,88$ ), si bien esta determinación sólo fue realizada en un grupo de 64 muestras, seleccionadas en función de su rango de digestibilidad *in vivo*, para las cuales el porcentaje de varianza explicada por DoPC fue semejante al obtenido para DoNDC y ambos ligeramente inferiores a DoTT.

La superioridad predictiva de la técnica *in vitro* con líquido ruminal para la estimación de la digestibilidad *in vivo* de ensilajes de hierba, comparada con la obtenida por los métodos de solubilidad enzimática ha sido señalada por diversos autores. Barber *et al.* (1984) indica un coeficiente de correlación entre DMO y los valores DoTT, DoNDC y DoPC de 0,87; 0,78 y 0,82, mientras Givens *et al.* (1989) pone de manifiesto la alta capacidad predictiva del método Tilley-Terry ( $r = 0,86$ ) comparada con la de los métodos FND-Celulasa ( $r = 0,76$ ) y Pepsina-Celulasa ( $r = 0,82$ ), quienes indican la superioridad de los métodos biológicos, a este respecto, comparados con los métodos empíricos basados en parámetros químicos. Estos autores señalan, además, la aditividad de los valores de digestibilidad *in vitro* obtenidos por diferentes métodos, indicando que la combinación de los valores de DoTT y DoNDC ó DoTT y DoPC permitían incrementar el porcentaje de varianza explicada respecto al valor obtenido por el método Tilley-Terry como única variable independiente en la estimación de DMO. A este respecto, si bien en nuestro estudio se ha comprobado que la selección de variables en el procedimiento de regresión paso a paso llegaba a incluir las determinaciones de digestibilidad enzimática (valores DoNDC ó DoPC), en el modelo que previamente tenía a DoTT como variable independiente, su inclusión no mejoraba substancialmente el porcentaje de varianza explicado respecto a otros parámetros de más fácil determinación, como PB o FAD, por lo que no fueron seleccionados en los mejores modelos, al margen de la dudosa aplicabilidad práctica de modelos basados en dos determinaciones *in vitro*.

Givens *et al.* (1993), en un estudio con 33 ensilajes de gramíneas realizados en rotopacas indican que la relación entre DMO y la digestibilidad enzimática por el método FND-Celulasa es diferente de la observada para los ensilajes almacenados en silos convencionales, basándose en el mayor porcentaje de varianza explicada de la digestibilidad *in vivo* proporcionada por dicha técnica (84%) que superó a la observada para la digestibilidad *in vitro* con líquido ruminal o el método Pepsina-Celulasa (74 y 75%, respectivamente). En nuestro estudio, el análisis de covarianza realizado incluyendo la variable de clase tipo de silo (rotopacas vs. otros silos) no afectó significativamente a ningún modelo de predicción, por lo que no podemos corroborar que sea necesario obtener diferentes ecuaciones para distintos tipos de silo, a partir de los resultados obtenidos en el presente trabajo.

### **b) Ensilajes de maíz**

La revisión de diferentes trabajos encaminados a la predicción de la digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica de ensilajes de maíz o de planta de maíz en estado fresco por métodos de laboratorio muestran que, en general, la precisión de los métodos *in vitro*, al igual que la de las ecuaciones basadas en parámetros químicos, es inferior a la observada en ensilajes de hierba (Givens *et al.*, 1995; De Boever *et al.*, 1997, 1999).

En nuestro estudio las correlaciones entre los valores de digestibilidad de la materia orgánica *in vitro* e *in vivo* de los ensilajes de maíz fueron consistentemente más bajas comparadas con las observadas para la colección de ensilajes de hierba, tanto para las 91 muestras del total de la colección como para las 73 muestras que procedían de plantas que habían alcanzado un estado normal de madurez, obteniéndose valores de  $r$  de 0,71; 0,52 y 0,57 para DoTT, DoNDC y DoPC en el primer caso y de 0,70; 0,59 y 0,62 en el segundo. Se destaca que el contenido en LAD consiguió explicar, para ambos grupos, un porcentaje de varianza de DMO prácticamente igual al conseguido por los métodos de solubilidad enzimática.

Aufrère *et al.* (1992), comparando el método Pepsina-Celulasa y el Tilley-Terry frente a los basados en parámetros químicos en una colección de 118 muestras de planta entera de maíz en estado fresco de digestibilidad *in vivo* conocida, no observan una mejora en el poder predictivo de DMO cuando se utilizan los métodos *in vitro*, obteniendo valores del coeficiente de correlación  $r$  de 0,62; 0,66 y -0,65 para DoTT, DoPC y LAD, respectivamente, concluyendo que, a diferencia de lo que ocurre con ensilajes de gramíneas pratenses y leguminosas, la digestibilidad de la planta de maíz no es mucho mejor predicha por métodos biológicos que por métodos químicos. A una conclusión similar llegan Dardenne *et al.* (1993) en un trabajo donde se utilizó una amplia colección de 199 muestras de planta de maíz, indicando que los coeficientes de correlación de DMO con DoNDC y LAD fueron de 0,65 y 0,64, respectivamente. En opinión de Aufrère *et al.* (1992), posibles causas de la dificultad de la predicción de la digestibilidad *in vivo* de la planta de maíz por métodos de laboratorio serían la baja correlación entre digestibilidad y el contenido en la pared celular para la planta de maíz, la escasa variabilidad en digestibilidad entre las muestras utilizadas, y el hecho de la naturaleza heterogénea de la planta entera de maíz, compuesta, a diferencia de otros forrajes, de una mezcla de granos y órganos vegetativos, lo que dificulta notablemente la obtención de muestras representativas.

La observación en nuestro trabajo de que los valores de digestibilidad enzimática mostraron una correlación muy superior con los componentes de la pared celular que con DMO, a diferencia de lo ocurrido con DoTT parece sugerir que los métodos de solubilidad enzimática tienen mayor utilidad como predictores de DMO en forrajes en los que la digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica está más relacionada con el contenido en pared celular del forraje, como es el caso de los ensilajes de hierba, que para los ensilajes de maíz.

Andrieu *et al.* (1995), en un trabajo realizado sobre una colección de 254 muestras de planta de maíz de digestibilidad *in vivo* conocida, llaman la atención sobre la

importancia de obtener relaciones robustas, donde se encuentren adecuadamente representadas las diferentes fuentes de variación, en particular los efectos del año, localidad y genotipo, proponiendo una ecuación basada en la digestibilidad enzimática (DoPC) y proteína bruta, que explicaba el 44% de la varianza de DMO. El modelo obtenido en nuestro trabajo con DoPC y PB explica un porcentaje de varianza semejante, si bien el error de predicción es más elevado que el obtenido por dichos autores ( $\pm 2,4$  y  $\pm 1,9$  unidades, respectivamente), debiendo indicarse que, mientras que el rango de valores de DMO en el citado estudio fue del 66,0 al 77,0%, para nuestra colección fue sensiblemente más amplio (59,1 a 76,8%).

Aerts (1997), para una colección de 45 ensilajes de hierba y 11 ensilajes de maíz, indica que la desaparición de materia seca de bolsas incubadas en rumen durante 48 h, seguido de reincubación en solución de pepsina-clorhídrico durante un tiempo similar mostró una capacidad predictiva de la digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica superior a la del método Tilley-Terry, consiguiendo explicar el 79% de la varianza de DMO frente al 73% alcanzado por este último método. Barber *et al.* (1990), en un estudio con 170 ensilajes de hierba, encuentran que la desaparición de materia seca de bolsas incubadas *in situ* durante 48 h, seguida del lavado de las mismas con detergente en agua caliente permite explicar el 68% de la varianza de DMO, mientras que el método Tilley-Terry permitía incrementar dicho porcentaje hasta el 74%. En nuestro estudio, el porcentaje de desaparición de materia seca de las bolsas de nylon incubadas *in situ* durante 72 h (D72), para el conjunto de 46 muestras de ensilaje de maíz en las que se determinó dicho valor, permitió explicar entre el 62 y el 45% de la varianza de DMO, con un error de predicción en validación cruzada de entre  $\pm 1,9$  y  $\pm 2,2$  para un modelo multivariable que incluía el contenido en FAD y MS de las muestras, además del valor de D72 y para el modelo de una sola variable, respectivamente. Estos valores son muy próximos a los obtenidos para DoTT en este grupo de muestras, si bien el porcentaje de varianza explicada por el modelo de varias variables que incluía el valor *in situ* fue superior al observado para el que incluía DoTT y PB como predictores ( $R^2_{cv}=0,55$ ). Ferret *et al.* (1997), para 11 ensilajes de maíz con un rango de digestibilidad entre 62,2 y 75,7% observan que la fracción insoluble pero potencialmente digestible (parámetro *b* de la ecuación de Orskov y McDonald, 1979) era mejor predictor que la digestibilidad *in vitro* con líquido ruminal, explicando, en el procedimiento de calibración, el 74% de la varianza de la digestibilidad *in vivo* de los ensilajes, con un error de  $\pm 2,2$ , semejante al obtenido en nuestro estudio para el modelo de una sola variable.

### **Comparación de la capacidad predictiva de los modelos basados en análisis químicos y digestibilidad *in vitro* con líquido ruminal y celulasas, obtenidos en el presente trabajo, con otros métodos de laboratorio que utilizaron las mismas colecciones de muestras**

Los mejores modelos empíricos obtenidos en nuestro estudio, basados en análisis químicos, consiguieron predecir la digestibilidad *in vivo* de los ensilajes de hierba con un error de predicción de entre  $\pm 4,3$  y  $\pm 4,7$  unidades para ecuaciones de regresión multivariantes, explicando entre el 59 y el 50% de la varianza de DMO, en validación cruzada. Los modelos basados en la digestibilidad *in vitro* con líquido ruminal mostraron una precisión de entre  $\pm 3,2$  y  $\pm 3,5$  unidades, explicando entre el 78 y 72% de la varianza de DMO, mientras que las estimaciones basadas en la digestibilidad enzimática por el método FND-Celulasa fueron menos precisas que estas últimas, explicando entre el 70 y 68% de la varianza, con errores de predicción de entre  $\pm 3,7$  y  $\pm 3,8$  unidades. Para el conjunto de 64 muestras de valores DoPC conocidos, los errores de predicción fueron de  $\pm 3,2$ ,  $\pm 3,5$  y  $\pm 3,7$  para los modelos univariantes basados en DoTT, DoPC y DoNDC, respectivamente.

Para los ensilajes de maíz con más del 28% de materia seca corregida por pérdida de volátiles en estufa, las mejores ecuaciones de predicción, basadas en parámetros químicos consiguieron predecir el valor de la digestibilidad de la materia orgánica *in vivo* con una precisión que osciló entre  $\pm 2,3$  a  $\pm 2,6$  unidades, explicando entre el 48 y el 33% de la varianza de DMO, en validación cruzada. Los modelos basados en DoTT explicaron entre el 57 y el 46% de dicha varianza, con errores de predicción entre  $\pm 2,1$  y  $\pm 2,3$  unidades. El poder predictivo de los modelos basados en la digestibilidad enzimática no fue mejor que el de los modelos de varias variables basados en análisis químicos, consiguiendo explicar entre el 44 y el 34% de la varianza de DMO los modelos basados en DoPC y entre el 36 y 31% los basados en DoNDC. Los errores de estimación de DMO, en validación cruzada, oscilaron entre  $\pm 2,4$  y  $\pm 2,6$  unidades para el primer método y entre  $\pm 2,5$  y  $\pm 2,6$  para el segundo.

Utilizando muestras de ensilaje de hierba y ensilaje de maíz pertenecientes a la colección del CIAM, seleccionadas en función de su rango de digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica, García Rodríguez *et al.* (2003a, 2003b, 2003c) evaluaron la capacidad predictiva de la técnica de producción de gas *in vitro* para la estimación de DMO de dichos forrajes. Como puede observarse en la Tabla 18, se obtuvieron errores mínimos de predicción en validación cruzada de  $\pm 3,0$  a  $\pm 4,2$  para los ensilajes de hierba y de  $\pm 2,0$  a  $\pm 2,4$  para ensilajes de maíz. La precisión de la estimación para los mejores modelos basados en la producción de gas es ligeramente superior a la obtenida cuando se utiliza la digestibilidad *in vitro* con líquido ruminal como predictor ( $RSD_{cv}$  de  $\pm 3,2$  y

$\pm 2,1$  en los mejores modelos para ensilajes de hierba y maíz, respectivamente), si bien debe ser tenido en cuenta el mayor número de muestras utilizado para la construcción y validación de las ecuaciones en este último caso.

TABLA 18

**Estadísticos de regresión para la predicción de la digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica de ensilajes de hierba y de planta entera de maíz, obtenidos a partir de los resultados de producción de gas *in vitro*, solos o en combinación con la composición química del ensilaje**  
*Regression statistics for the prediction of in vivo organic matter digestibility of herbage and whole-plant maize silages obtained from the use of in vitro gas production parameters, alone or in combination with silage chemical composition*

Variables independientes utilizadas en los modelos de predicción	n	Calibración		Validación Cruzada	
		R <sup>2</sup> <sub>c</sub>	RSD <sub>c</sub>	R <sup>2</sup> <sub>cv</sub>	RSD <sub>cv</sub>
<b>a) Ensilajes de hierba</b>					
A, B y c	72	0,70***	4,14	0,67***	4,27
G12, G15, G19, G36 y G72	72	0,79***	3,52	0,74***	3,75
B, c, PB y FND	72	0,80***	3,43	0,77***	3,56
B, c, PB y pH	72	0,82***	3,23	0,78***	3,45
G2, G15, G19, G96, MS y PB	72	0,81***	3,35	0,79***	3,18
G2, G15, G19, G96, MS, pH y PB	72	0,86***	2,85	0,83***	3,07
<b>b) Ensilajes de maíz</b>					
A, B, c y PB	64	0,46***	2,36	0,38***	2,46
G6, G8, G48 y G96	64	0,47***	2,32	0,39***	2,44
B, c, pH, MS y PB	64	0,56***	2,13	0,49***	2,22
G6, G8, G48, G96, PB y FND	64	0,63***	1,98	0,54***	2,11
G30, G48, G72, PB, LAD y pH	64	0,68***	1,89	0,57***	2,06

Significación del modelo (\*\*\*)  $p < 0,001$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*  $p < 0,05$ ; n.s.: no significativo  $p > 0,05$ )

n: número de muestras

R<sup>2</sup>: coeficiente de determinación

RSD: desviación estándar residual

G2, G12, G15, G19, G24, G36, G72, G96: producción acumulada de gas (ml g<sup>-1</sup> MO) a las 2, 12, 15, 19, 24, 36, 72 y 96 horas tras la inoculación.

A, B, c: parámetros resultantes del ajuste al modelo de Orskov y McDonald (1979)

PB: proteína bruta, FND: fibra neutro detergente, LAD: lignina ácido detergente, MS: materia seca no corregida

Fuente: García Rodríguez *et al.* (2003a, 2003c) y Oregui (comunicación personal)

La utilidad del método NIRS para la estimación de la DMO de ensilajes de hierba y maíz es puesta de manifiesto por los resultados que se muestran en la Tabla 19, obtenidos por Castro (resultados no publicados), sobre las mismas colecciones utilizadas en el presente trabajo. Las operaciones de obtención, registro y tratamiento de espectros de las muestras de las colecciones respectivas fueron realizadas por el personal de la sección de análisis instrumental del CIAM, utilizando un espectrofotómetro monocromador Foss NIRSystem 6500 (NIRSystems, Inc., Silver Spring, MD, USA), sobre muestras secas y molidas, según ha sido descrito por Castro *et al.* (2002a), Castro *et al.* (2002b) y Castro *et al.* (2003).

Para el caso de los ensilajes de hierba, las 197 muestras se dividieron en un subconjunto de 146 muestras para calibración y otro de 49 muestras para validación.

Como se puede observar, el porcentaje de varianza explicada de DMO es superior y los errores mínimos de predicción inferiores tanto en el conjunto de calibración (146 muestras) como de validación (49 muestras), ( $R^2_c=0,87$ ;  $R^2_v=0,79$ ;  $SEC=\pm 2,53$ ;  $SEP=\pm 2,33$ ) comparados con los obtenidos para el mejor modelo multivariable basado en técnicas *in vitro* y parámetros químicos, con DoTT, PB y FAD como predictores ( $R^2_c=0,79$ ;  $R^2_{cv}=0,78$ ;  $RSD_c=\pm 3,10$ ;  $RSD_{cv}=\pm 3,22$ ). Debe ser tomada en cuenta la indicación de Offer (1993), quien sugiere que para ensilajes de hierba el error de predicción de DMO no debería superar las 3 unidades (%), lo que sólo cumpliría la técnica NIRS, de todos los métodos estudiados.

Para las 97 muestras de la colección de ensilajes de maíz, el porcentaje de varianza explicada de la digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica en calibración y validación cruzada (0,64 y 0,57, respectivamente) mediante la técnica NIRS fue superior a la de cualquier modelo basado en determinaciones *in vitro* o parámetros químicos como predictores, obteniéndose asimismo errores de predicción inferiores en la estimación de DMO, tanto para los modelos desarrollados sobre la totalidad de la colección como para los generados a partir de las 73 muestras de ensilajes cosechados en un estado normal de madurez.

Estos resultados ponen de manifiesto la mayor capacidad predictiva del método NIRS para la estimación de la digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica de los ensilajes de hierba y maíz, comparado con los métodos biológicos y los métodos empíricos basados en parámetros químicos.

TABLA 19

**Precisión de las estimaciones NIRS de digestibilidad *in vivo* e *in vitro* de la materia orgánica de ensilajes de hierba y planta entera de maíz**

*Precision of NIRS estimates of in vivo and in vitro organic matter digestibility of herbage and whole-plant maize silages*

	Conjunto de calibración							Conjunto de validación				
	n	Media	s.d.	R <sup>2</sup>	SEC	1-VR	SECV	n	Media	s.d.	R <sup>2</sup>	SEP
<b>Ensilajes de hierba</b>												
DMO	148	67,82	7,29	0,87	2,53	0,84	2,98	49	68,31	6,13	0,79	2,33
DoTT	148	67,65	7,05	0,83	2,89	0,76	3,48	49	67,72	5,80	0,71	3,25
DoNDC	120	59,02	8,64	0,82	3,63	0,76	4,21	49	61,12	7,65	0,70	3,43
DoPC	64	61,49	10,74	0,90	3,26	0,88	3,65					
<b>Ensilajes de maíz</b>												
DMO	91	68,69	3,29	0,64	1,97	0,57	2,07					
DoTT	91	74,81	3,32	0,74	2,01	0,64	2,11					
DoNDC	91	65,99	4,55	0,85	1,93	0,82	2,12					
DoPC	91	65,22	5,00	0,88	1,77	0,84	1,99					

SEC: error estándar de calibración; SECV: error estándar de validación cruzada; SEP: error estándar de validación

DMO: digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica

DoTT: digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica con líquido ruminal

DoNDC: digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica por el método FND-Celulosa

DoPC: digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica por el método Pepsina-Celulosa

Fuente: Castro, resultados no publicados

Una forma más adecuada de realizar la comparación entre los diferentes métodos en cuanto a su capacidad de predecir adecuadamente DMO de ensilajes de hierba y maíz es utilizar el estadístico RER, que relaciona el error de predicción con el rango de la digestibilidad *in vivo* del conjunto de predicción. Este método permite tener en cuenta las diferencias en el conjunto de muestras utilizado para la construcción de los modelos de predicción. En la Tabla 20 se indica el valor de RER (computado como la relación entre la diferencia entre los valores máximo y mínimo de la variable dependiente en el conjunto de validación o validación cruzada y el error de predicción) obtenido en el presente trabajo para los modelos basados en técnicas *in vitro*, ecuaciones empíricas e incubación *in situ*, así como los obtenidos para la técnica de producción de gas *in vitro* por García Rodríguez *et al.* (2003a, 2003b) y para la técnica NIRS por Castro (resultados no publicados). Según Williams y Sobering (1996), un método de estimación tendrá una mayor exactitud relativa cuanto mayor sea el valor del estadístico RER, sugiriendo un valor  $\geq 10$  como indicativo de una adecuada calidad de la estimación para las calibraciones NIRS.

TABLA 20

**Comparación de la capacidad predictiva de diferentes métodos indirectos para la estimación de la digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica de ensilajes de hierba y planta entera de maíz, evaluados con la colección de muestras del CIAM**

*Comparison of the predictive ability of different indirect methods for the estimation of *in vivo* organic matter digestibility of herbage and whole-plant maize silages, evaluated with the CIAM sample collection*

Método	Ensilajes de hierba			Ensilajes de planta entera de maíz		
	n	Rango <sup>1</sup> DMO	RER <sup>2</sup>	n	Rango <sup>1</sup> DMO	RER <sup>2</sup>
a) Métodos <i>in vitro</i>						
DoTT	197	32,50	9,15 a 10,10	91	17,25	7,24 a 8,13
DoNDC	169	32,50	8,53 a 8,76	91	17,25	6,46 a 6,71
DoPC	64	32,50	9,10	91	17,25	6,60 a 7,33
c) Métodos empíricos	197	32,50	5,66 a 7,52	91	17,25	6,07 a 7,33
d) Incubación <i>in situ</i>			-	46	15,04	6,65 a 7,91
e) NIRS	148	32,50	10,90	91	17,25	8,57
	49	26,35	11,30			
f) Producción de gas <i>in vitro</i>	72	32,50	7,7 a 10,8	64	16,10	6,7 a 8,0

<sup>1</sup> Diferencia entre los valores máximo y mínimo de la digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica del conjunto de muestras de calibración o validación cruzada

<sup>2</sup> RER: relación entre el rango y el error de predicción (en validación o validación cruzada)

DMO: digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica

DoTT: digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica con líquido ruminal

DoNDC: digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica por el método FND-Celulosa

DoPC: digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica por el método Pepsina-Celulosa

Siguiendo este criterio, puede afirmarse que, en general, la exactitud alcanzada por los métodos de estimación del valor de la digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica es mayor en ensilajes de hierba que en los de maíz, y que de los resultados obtenidos no parece deducirse la existencia de una interacción entre el método empleado y el tipo de forraje, con la salvedad de los métodos basados en la solubilidad enzimática. La técnica NIRS presenta la mayor exactitud tanto en ensilajes de hierba como en ensilajes de maíz, seguida de los métodos de digestibilidad *in vitro* con líquido ruminal y producción de gas *in vitro*. En los ensilajes de hierba, las técnicas de solubilidad enzimática muestran mayor exactitud que los métodos empíricos, pareciendo advertirse un mejor comportamiento del método Pepsina-Celulasa. En ensilajes de planta entera de maíz, la incubación *in situ* mejora la exactitud de los métodos de solubilidad enzimática y los métodos empíricos, que alcanzan resultados comparables. De entre las dos técnicas de solubilidad enzimática, el método Pepsina-Celulasa parece exhibir una mayor capacidad predictiva. Solamente los métodos NIRS, Tilley-Terry y producción de gas *in vitro* alcanzan el valor 10 de RER, para la colección de ensilajes de hierba.

#### **Comparación de la precisión de los métodos obtenidos a partir de las colecciones del CIAM con los resultados de otros autores europeos**

La capacidad predictiva de los métodos indirectos para la estimación de la digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica de ensilajes de hierba y planta entera de maíz ha sido estudiada por diversos autores. Sin embargo, en relativamente pocos trabajos se compara la capacidad predictiva de diversos métodos en el mismo laboratorio para distintos tipos de forraje, lo que dificulta la comparación global entre las diferentes técnicas. Se destaca que, para ensilajes de hierba, el mayor volumen de información encontrado se refiere a los trabajos realizados en el Reino Unido (Givens *et al.*, 1989; Adamson y Givens, 1989; Givens *et al.*, 1990; Barber *et al.*, 1990; Givens *et al.*, 1993; Givens *et al.*, 1995; Givens y Deaville 2001) centrados en la estimación del contenido en energía metabolizable del ensilaje, mientras que para la planta de maíz, en razón a la similitud entre los valores de digestibilidad entre el maíz fresco y ensilado sobresalen los trabajos realizados en Francia sobre el forraje fresco (Andrieu, 1984; Aufrère *et al.*, 1992; Andrieu *et al.*, 1993; Dardenne *et al.*, 1993; Andrieu, 1995; Andrieu *et al.*, 1999) y en Bélgica y Holanda sobre el ensilado (Deinum *et al.*, 1984; De Boever *et al.*, 1988; De Boever *et al.*, 1997; De Boever *et al.*, 1999).

A fin de permitir comparar estos resultados con los obtenidos en el presente estudio y los referidos por los otros autores españoles que evaluaron la capacidad predictiva de los métodos de producción de gas *in vitro* y la técnica NIRS utilizando las muestras de la colección del CIAM, se han elaborado las Tablas 21 y 22 donde se reflejan, para los ensilajes de hierba y de maíz, así como para planta entera de maíz, los valores del

estadístico RER correspondiente a los modelos de una sola variable, calculado como el ratio entre el rango de valores de digestibilidad *in vivo* del conjunto de calibración y el error estándar de calibración. La razón de no utilizar los valores de validación o validación cruzada como sería de desear es que en muchos trabajos no se indican los estadísticos de validación, o bien no se ha realizado ésta. En los casos en que se dispone de esa información, el valor de RER se calcula con los datos de validación, indicándose en la Tabla respectiva.

Para ensilajes de hierba, los criterios químicos explicaron alrededor del 50% de la varianza de la digestibilidad *in vivo*, con valores de RER , para los estudios que incluyeron 40 o más muestras, de entre 4,6 y 7,8. Los métodos biológicos alcanzan a explicar el 70-75% de la varianza de DMO, obteniéndose un valor RER de entre 7,0 y 15,7 para DoTT, de entre 9,2 y 11,5 para DoNDC y de entre 7,5 a 15,8 para DoPC. La incubación *in situ*, en dos ensayos, obtuvo valores RER que oscilaron entre 7,8 y 9,4. En los trabajos de Nousiainen *et al.* (2003a y 2003b) pueden observarse valores más elevados debido a la composición de la muestra, con un reducido número de ensilajes de dos especies gramíneas, cosechados en la misma localidad y con un amplio rango de valores de digestibilidad. La técnica NIRS permite explicar alrededor del 80% de la varianza en la mayor parte de los ensayos, siendo de resaltar que, en todos aquellos en los que se comparó con otras técnicas de estimación, obtuvo menores errores de predicción que los restantes métodos evaluados, lo cual concuerda con nuestros resultados. Los valores del estadístico RER para la técnica NIRS oscilaron entre 9,6 y 11,7 para este grupo de forrajes.

Para el caso de la planta entera de maíz, haciendo abstracción de si las muestras evaluadas eran ensilajes o material en estado fresco, se observó que los criterios químicos conseguían explicar alrededor del 40% de la varianza de la digestibilidad *in vivo* en las ecuaciones más robustas, oscilando entre el 25 y el 53% para el conjunto de los ensayos, con valores de RER que oscilaron entre 4,7 y 7,7. Los métodos biológicos explicaron alrededor del 44% de la variabilidad de DMO, alcanzando el 66% en algún ensayo. El valor de RER para DoTT osciló entre 5,2 y 8,6; para DoNDC fue de 8,9 en el único ensayo revisado que contenía este método y para DoPC entre 5,5 y 8,9. El porcentaje de la varianza explicada de DMO por la técnica NIRS fue del 75 y 65%, con valores RER de 8,6 y 10,4 para dos ensayos donde se utilizó un amplio conjunto de muestras (150 y 199, respectivamente). En tercer ensayo, realizado por De Boever *et al.* (1997) con 50 muestras, el porcentaje de varianza explicado por NIRS fue sensiblemente más bajo (37%), con un valor RER de 5,7, inferior al obtenido para los métodos biológicos. Con esta salvedad, al igual que ocurría en el caso de los ensilajes de hierba, la técnica NIRS mostró una mayor precisión que los restantes métodos evaluados, lo que concuerda con los resultados obtenidos en nuestro estudio.

TABLA 21

**Precisión relativa (RER) de diversos métodos de estimación de DMO de ensilaje de hierba según resultados referidos por otros autores europeos**

*Relative precision (RER) of several methods of estimating herbage silage DMO from results referenced by other European authors*

Valor medio de digestibilidad in vivo	Composición química <sup>(1)</sup>	Incubación <i>in vitro</i> con líquido ruminal	Solubilidad enzimática <sup>(1)</sup>	Incubación <i>in situ</i>	NIRS	Referencia
DMO (%)= 63,5 n=45 (hierba) y n=11 (maíz)	6,5 (FB) 6,2 (FND) 6,2 (FAD) 5,3 (CEL) 7,8 (LIG)	7,0	-	7,8 (48h)	-	Aerts <i>et al.</i> (1977)
MOD (g kg <sup>-1</sup> MS)= 58,8±7,1 n=50	4,7 (FB) 4,6 (FND)	15,7	8,6 (PC)	-	-	De Boever <i>et al.</i> (1988)
DMO (%)=75,0±4,8 n=64	6,6 (LIG)	7,7	8,1 (PC)	-	9,6 <sup>(2)</sup>	De Boever <i>et al.</i> (1996)
DMO (%)=74,9±5,0 n=50	6,1 (LIG)	7,1	7,9 (PC)	-	-	De Boever <i>et al.</i> (1999)
DMO (%)=73,4±5,6 n=50	-	<b>9,9</b>	15,8 (PC)	-	-	Steg <i>et al.</i> (1990)
MOD (g kg <sup>-1</sup> MS)= 67,2±6,0 n=124	5,8(FB) 6,5 (FND) 5,9 (FAD) 5,5 (LIG) 7,3 (FADM)	8,9	7,5 (PC) 9,2 (NDC)	-	-	Givens <i>et al.</i> (1989)
MOD (g kg <sup>-1</sup> MS)= 64,0±6,3 n=37	5,2 (FB) 6,6 (FND) 5,6 (FAD) 5,4 (CEL) 8,3 (FADM)	9,0	11,6 (PC) 11,5 (NDC)	-	-	Givens <i>et al.</i> (1993)
DMO (%)=71,0±6,0 n=170	7,7 (LIG) 6,6 (FADM)	10,6	8,0 (PC)	9,4 (48h)	11,7 <sup>(2)</sup>	Barber <i>et al.</i> (1990)
DMO (%)=73,4±6,6 n=25 <sup>(3)</sup>	5,9 (PB) 7,5 (FND) 8,6 (FAD) 7,5 (LIG) 7,2 (CEL)	-	21,0 (PC)	-	-	Nousiainen <i>et al.</i> (2003)a
DMO (%)=73,4±6,6 n=28 <sup>(4)</sup>	6,6 (PB) 8,6 (FND) 7,4 (FAD) 6,8 (CEL) 10,0 (LIG)	-	10,0 (PC)	18,0 <sup>(5)</sup>	-	Nousiainen <i>et al.</i> (2003)b
DMO=67,8±7,1 n=136	-	-	-	-	11,5 <sup>(2)</sup>	Gordon <i>et al.</i> (1998)

<sup>(1)</sup> El componente entre paréntesis indica la variable independiente (LIG: lignina; PC: pepsina-celulosa; NDC: fibra neutro detergente-celulosa; <sup>(2)</sup> validación cruzada <sup>(3)</sup> sólo primeros cortes <sup>(4)</sup> sólo segundos cortes <sup>(5)</sup> determinación de la concentración de FND indigestible *in situ*.

RER: relación entre el rango de valores de la variable dependiente y el error mínimo de predicción en calibración o validación cruzada

DMO: digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica; MOD: materia orgánica digestible calculada a partir de DMO

TABLA 22

**Precisión relativa (RER) de diversos métodos de estimación de DMO de ensilaje de planta entera de maíz según resultados referidos por otros autores europeos**

*Relative precision (RER) of several methods of estimating whole-plant maize silage DMO from results referenced by other European authors*

Valor medio de digestibilidad in vivo	Composición química <sup>(1)</sup>	Incubación in vitro con líquido ruminal	Solubilidad enzimática <sup>(1)</sup>	Incubación in situ	NIRS	Referencia
<b>Forraje fresco</b>						
DMO (%)= 72,3±2,6 n=118	5,2 (FB) 4,7 (FND) 5,0 (FAD) 5,4 (LIG)	5,2	5,5 (PC)	-	-	Aufrère <i>et al.</i> (1992)
DMO (%)= 71,9±2,8 n=199	6,4 (FB) 6,7 (LIG)	-	6,6 (PC)	-	8,6 <sup>(2)</sup>	Dardenne <i>et al.</i> (1993)
DMO (%)=72,1±3,3 n=150	5,8 (ALM) 7,2 (FB) 6,8 (FND) 7,7 (FAD) 7,4 (LIG)	-	8,9 (PC)	-	10,4 <sup>(3)</sup>	Andrieu <i>et al.</i> (1999)
<b>Forraje ensilado</b>						
MOD (% MS)= 69,6±3,4 n=50	5,5 (FB) 5,0 (FND)	8,6	7,3 (PC)	-	-	De Boever <i>et al.</i> (1988)
MOD (%MS)= 67,7±3,9 n=106	7,3 (FB) 7,0 (FND) 7,1 (FAD) 7,3 (FADM)	-	8,9 (NDC)	-	-	Givens <i>et al.</i> (1995)
DMO (%)= 74,7±2,6 n=50	6,7 (FB)	7,6	7,6 (PC)	-	5,7	De Boever <i>et al.</i> (1997)

<sup>(1)</sup> El componente entre paréntesis indica la variable independiente. LIG: lignina; PC: pepsina-celulasa; NDC: fibra neutro detergente-celulosa

<sup>(2)</sup> validación <sup>(3)</sup> validación cruzada

RER: relación entre el rango de valores de la variable dependiente y el error mínimo de predicción en calibración o validación cruzada

DMO: digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica; MOD: materia orgánica digestible calculada a partir de DMO

## CONCLUSIONES

1. A partir del presente trabajo se han desarrollado, por primera vez en España, métodos propios de estimación del valor energético de ensilajes de hierba y maíz, basados en colecciones de muestras de digestibilidad *in vivo* conocida suficientemente amplias. La fiabilidad de las estimaciones obtenidas por los diferentes métodos es comparable con lo referenciado en la bibliografía por diferentes autores, resultado de trabajos experimentales realizados en países europeos de nuestro entorno.
2. Para los ensilajes de hierba, los métodos empíricos basados en análisis químicos consiguieron explicar como máximo el 60% de la varianza de la digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica (DMO), con errores de predicción entre 4,3 y 5,7 unidades. Los métodos *in vitro* (incubación con líquido ruminal y solubilidad enzimática) fueron estimadores de DMO más precisos que los anteriores, permitiendo explicar entre el 68 y el 70% de la varianza de la digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica con errores de predicción entre 3,2 y 3,8 unidades. La inoculación *in vitro* con líquido ruminal fue un estimador más preciso que los métodos de solubilidad enzimática. Entre ellos, la técnica Pepsina-Celulasa mostró mayor capacidad predictiva que la FND-Celulasa, si bien las diferencias fueron de escasa magnitud.
3. Para ensilajes de planta entera de maíz, la correlación entre la digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica y los posibles predictores (parámetros químicos y métodos *in vitro*) fue de menor magnitud que la observada para los ensilajes de hierba. Los métodos empíricos basados en análisis químicos consiguieron explicar como máximo el 48% de la varianza de DMO, con errores de predicción entre 2,3 y 2,8 unidades. El método *in vitro* con inóculo ruminal fue más preciso que los métodos empíricos y los basados en la solubilidad enzimática, permitiendo explicar entre el 57 y el 46% de la varianza de DMO, con errores de predicción entre 2,1 y 2,3 unidades. La capacidad predictiva de los métodos enzimáticos fue semejante a la de los mejores modelos de regresión multivariantes con parámetros químicos como predictores, explicando entre el 44 y el 31% de la varianza, con errores de predicción entre 2,4 y 2,6 unidades. La técnica de incubación *in situ* permitió obtener resultados comparables a los del método *in vitro* con líquido ruminal, para la estimación de DMO.
4. La comparación de los resultados obtenidos en este estudio con los de otros autores españoles que, sobre la misma colección de muestras de digestibilidad conocida, evaluaron la capacidad de las técnicas de producción de gas *in vitro* y NIRS para predecir adecuadamente el valor de la digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica de los ensilajes de hierba y maíz mostraron que la técnica NIRS proporciona la mayor exactitud relativa tanto en ensilajes de hierba como en ensilajes de maíz, superior a la de cualquier otro método, seguida por los métodos de digestibilidad *in vitro* con líquido ruminal y de producción de gas *in vitro*.

5. Las indudables ventajas operativas y de precisión de las estimaciones proporcionadas por la técnica NIRS aconsejan su utilización en las rutinas de predicción. Sin embargo, el elevado coste y lentitud de las determinaciones *in vivo* limitan la variabilidad contenida en la colecciones de muestras de digestibilidad conocida y, por tanto, la extensión de su aplicación en la práctica. Las ecuaciones obtenidas en este trabajo, que relacionan los valores de DMO con los diferentes métodos de estimación *in vitro*, pueden ser de utilidad para superar esta limitación, sugiriéndose la calibración de NIRS para la estimación de la digestibilidad *in vitro*, como forma de incrementar la robustez de dichas estimaciones, y aplicar las ecuaciones de paso para obtener el correspondiente valor *in vivo*.
6. La transferencia de los resultados obtenidos a los laboratorios de análisis de Galicia permitirá incrementar notablemente la fiabilidad, precisión y rapidez de las estimaciones del valor energético de los ensilajes de hierba y maíz producidos en las explotaciones ganaderas gallegas. Se recomienda precaución en cuanto a la extrapolación de los resultados obtenidos a otras áreas geográficas españolas, toda vez que no están representados en las colecciones muestras de forrajes de dichas áreas.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AERTS, J. V.; COTTYN, B. G.; DE BRABANDER, D. L.; BOUCQUÉ, CH. V.; BUYSSE, F. X., 1978. Digestibility and feeding value of maize. *Proceedings of the European Maize Meeting*, 106-128. Louvain-la-Neuve. Bélgica.
- 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.
- AFRC, 1993. *Energy and Protein Requirements of Ruminants*. An advisory manual prepared by the AFRC Technical Committee on Responses to Nutrients CAB Int., 159 pp. Wallingford (Reino Unido).
- ALEXANDER, R.H.; MCGOWAN, M., 1969. The routine determination of *in vitro* digestibility of organic matter in forages. *Journal of the British Grassland Society*, **21**, 140-147.
- ALWASH, A. H.; THOMAS, P. C., 1971. Effect of the size of hay particles on digestion in the sheep. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **22**, 611-615.
- ADESOGAN, A. T., 2002. What are feeds worth?. A critical evaluation of selected nutritive value methods. *Proceedings of the 13<sup>th</sup> Florida Ruminant Nutrition Symposium*, 33-47. Florida (EEUU).
- ALDERMAN, G., 1979. Application of practical rationing systems. En: *Standardization of analytical methodology for feeds*, 29-35. Ed. W.J. PIDGEN, C.C. BALCH, M. GRAHAM. Proceedings of a workshop held in Ottawa, Canada. 12-14 March 1979. IDRC-134e. Ottawa (Canadá).
- ANDERSON, L. H.; VANZANT, E. S., 2000. Effects of Supplemental Fat on Reproductive Performance in Beef and Dairy Cattle. *2000 Kentucky Ruminant Nutrition*, 1-6.
- ANDRIEU, J.; 1985. Composition et valeur alimentaire du maïs plante entière. *Colloque maïs ensilage*, 25 pp. Rennes (Francia).

- ANDRIEU, J.; BARRIÈRE, 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**, 391-396.
- ANDRIEU, J. P.; 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'uree sur la digestibilité et l'ingestibilité de l'ensilage de maïs. *Annales de Zootechnie*, **23** 1-25.
- ANDRIEU, J.; DEMARQUILLY, C., 1987. Valeur nutritive des fourrages: tables et prévision. *Bulletin Technique C. R. Z. V. Theix, I. N. R. A.*, **70**, 61-73.
- 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. P.; DEMARQUILLY, C.; ROUEL, J., 1990. Conservation et valeur alimentaire des ensilages directs de prairies naturelles. comparaison de trois types de conservateur. *INRA Production Animal*, **5**, 205-212.
- ANDRIEU, J.; DEMARQUILLY, C.; SAUVANT, D., 1998. Tables of feed used in France. En: *Ruminant nutrition: Recommended allowances and feed tables*, 213-303. Ed: R. JARRIGE. INRA y John Libbey Eurotext. Paris (Francia).
- ANDRIGHETTO, I. ; GRUBER , L.; COZZI, G.; URAY, G. ; GUIDETTI, G.; BUCHGRABER, K., 1992. Prediction of digestible organic matter in dry matter in vivo from the chemical composition, in vitro and in situ measurements on native mountain forages. *Animal Feed Science and Technology*. **39**, 323-333.
- ARMSTRONG, D. G., 1964. Evaluation of artificially dried grass as a source of energy for sheep. *Journal of Agricultural Science*, **62**, 399-416.
- AUFRÈRE, J., 1982. Etude de la prévision de la digestibilité des fourrages par une méthode enzymatique. *Annales de Zootechnie*, **31**, 111-129.
- AUFRÈRE, J., 1999. Estimation of organic matter digestibility of forages and feeds by pepsin-cellulase method. En: *Evaluation of the nutritive value of Mediterranean Roughages*, 67-71. Ed. J.L. TISSERAND. Options Méditerranéennes, serie B, n° 18. CIHEAM/EC/DG-VI. Zaragoza (España).
- AUFRÈRE, J.; GRAVIOU, D.; DEMARQUILLY, C.; ANDRIEU, J.; EMILE, J.; 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.
- 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 Tecnology*, **28**, 115-128
- BARBER, W. P. B.; ADAMSON, A. H.; ALTMAN, J. F. B., 1984. New methods of feed evaluation. En: *Recent Advances in Animal Nutrition-1984*, 161-176. Ed: W. HARESIGN, D. J. A. COLE. Butterworths. Londres (Reino Unido).
- BARBEYTO F., 1999. As explotaciones leiteiras na década dos noventa: pasado, presente... futuro?. *Revista Xóvenes Agricultores*, 75-82. Julio 1999.
- BARRIÈRE, Y.; ARGILLIER, O.; MICHALET-DOREAU, B.; HEBERT, Y.; GINGO, E.; GIAUFFRET, C.; EMILE, J. C., 1997. Relevant traits, genetic variation and breeding strategies in early silage maize. *Agronomie*, **17**, 395-411.
- BARRIÈRE, Y.; TRAINÉAU, R.; EMILE, J. C., 1992. Variation and covariation of silage maize digestibility estimated from digestion trials with sheep. *Euphytica*, **59**, 61-72.
- BASERY, M.; CAMPLING, R.C., 1988. Prediction of temperate forage intake and digestibility using in vitro techniques. *MARDI Research Journal*, **16**, 33-42.

- BEEVER, D. E.; MOULD, F. L., 2000. Forage evaluation for efficient ruminant livestock production. En: *Forage Evaluation in Ruminant Nutrition*, 15-42. Ed. D. I. GIVENS, E. OWEN, R. F. E. AXFORD, H. M. OMED. CAB International. Wallingford (Reino Unido).
- BERTHIAUME, R., LAFRENIÈRE, C.; PETIT, H.; LAPIERRE, H., ROBITAILLE, L., 1998. Stratégies permettant de maximiser la valeur alimentaire des fourrages. *Symposium sur les bovins laitiers*, 39-46. Conseil des Productions animales du Quebec. Quebec (Canadá).
- BIBBY, J.; TOUTENBURG, H., 1977. *Prediction and improved estimation in linear models*. John Wiley & Sons and Akademik Verlag, Berlín (Alemania). Citado en Traxler *et al.* (1998).
- BLAXTER, K. L., 1967. *The Energy Metabolism of Ruminants*. Hutchinson Sci. and Technical. Londres (Reino Unido), 329pp.
- BLAXTER, K.L., 1969. The efficiency of Energy Transformations in Ruminants. En: *Energy Metabolism of Farms Animals. Proc. of the 4th Symposium* (1967), 21-28. Ed. K.L. BLAXTER, J. KIELANOWSKI; G. A. THORBEC. Oriel Press Ltd. New Castle upon Tyne. England (Reino Unido).
- BLAXTER, K. L.; GRAHAM, N. M.; WAINMAN, F. W., 1956. Some observations on the digestibility of food by sheep, and on related problems. *British Journal of Nutrition*, **10**, 69-91.
- BUNTING, L. D.; HOWARD, M. D.; MUNTIFERING, R. B.; DAWSON, K. A.; BOLING, J. A., 1987. Effect of feeding frequency on on forage fiber and nitrogen utilization in sheep. *Journal of Animal Science*, **64**, 1170-1177.
- CALCEDO, V. El futuro de la OCM de la leche y los productos lácteos y del régimen de cuotas y sus consecuencias para España. *Seminario de la Asociación Española de Economía Agraria* (AEEA-IDEGA). Facultad de Veterinaria de Lugo (USC), 13-14 de Marzo 2003. Lugo (España).
- CAMMELL S. B., 1977. Techniques for the measurement of voluntary feed consumption and the output of faeces and urine by sheep. En: *Equipment and techniques used for research into the intake and digestion of forages by sheep and calves. Section 1*. Grassland Research Institute, Technical Report n° 24, 20 pp.
- CASTRO, P.; CASTRO, J.; GONZÁLEZ-ARRÁEZ, A.; FLORES, G., 1996. Analysis of mixed sward silage by near infrared reflectance spectroscopy (NIRS). *Proceedings of the XVIII International Grassland Congress*. Winnipeg (Canadá). ID n° 1043.
- CASTRO, P.; FLORES, G.; CASTRO, J.; GONZÁLEZ-ARRÁEZ, A., 1995. Análisis de ensilados de pradera mixta mediante NIRS: determinación de proteína bruta y fibra ácido detergente. *Actas de la XXXVI Reunión Científica de la SEEP*, 229-232.
- CASTRO, P.; FLORES, G.; GONZÁLEZ-ARRÁEZ, A.; CARDELLE, M., 2001. Predicción del valor nutritivo de ensilajes de maíz mediante NIRS. *Actas de la XLI Reunión Científica de la SEEP*, 407-411. Alicante (España).
- CASTRO, P.; FLORES, G.; GONZÁLEZ-ARRÁEZ, A.; CASTRO, J., 2002a. Nutritive quality of herbage silages by NIRS: dried or undried samples?. 19<sup>th</sup> General Meeting of the European Grassland Federation, 190-191. La Rochelle (Francia). CASTRO, P.; FLORES, G.; GONZÁLEZ-ARRÁEZ, A.; CASTRO, J.; DÍAZ-VILLAMIL, L. 2003. Nutritive quality of maize silages by NIRS. *11<sup>th</sup> International Conference on Near-Infrared Spectroscopy*, P.5.93. 6-11 Abril 2003. Córdoba (España).
- CASTRO, P.; FLORES, G.; GONZÁLEZ-ARRÁEZ, A.; DÍAZ-VILLAMIL, L., 2002b. Estrategias de calibración NIRS para determinar parámetros nutritivos en ensilajes de hierba. *Actas de la XLII Reunión Científica de la SEEP*, 475-478. Lleida (España).
- CASTRO, P.; GONZÁLEZ-QUINTELA, A.; PRADA-RODRÍGUEZ, D., 1990. Determinación simultánea de nitrógeno y fósforo en muestras de pradera. *Actas de la XXX Reunión Científica de la SEEP*, 200-207. San Sebastián (España).

- CHAMBERLAIN, A. T.; WILKINSON, J. M., 1996. *Feeding the dairy cow*. Chalcombe Publications, 241 pp. Marlow. Bucks (Reino Unido).
- CHANDLER, J.A.; JEWELL, W.J.; GOSSETT, J.M. ; VAN SOEST, P.J. ; ROBERTSON, J.B., 1980. Predicting methane fermentation biodegradability. *Biotechnology and Bioengineering Symposium No. 10*, 93-107.
- CHERNEY, D. J. R.; CHERNEY, J. H.; LUCEY, R. F., 1993. In vitro digestion kinetics and quality of perennial grasses as influenced by forage maturity. *Journal of Dairy Science*, **76**, 790-797
- CHERNEY, J. H.; CHERNEY, D. J. R. (1993). Annual and perennial grass production for silage. Silage production for feed to animal. NRAES-67. Northeast Regional Agriculture Engineering Service, Ithaca, Nueva York, EEUU, pp 9-17.
- CIPOLLONI, M. A.; SCHNEIDER, B. H.; LUCAS, H. L.; PAVLECH, H. M., 1951. Significance of the differences in digestibility of feeds by cattle and sheep. *Journal of Animal Science*, **10**, 337-343.
- CLANCY, M- J.; WILSON, R. K., 1966. Development and application of a new chemical method for predicting the digestibility and intake of herbage samples. *Proceedings of the X<sup>th</sup> International Grassland Congress*, 445-453. Helsinki (Finlandia).
- COCHRAN, R. C.; GALYEAN, M. L., 1994. Measurement of in vivo forage digestion by ruminants. En: *Forage Quality, Evaluation and Utilization*, 613-643. Ed. G. C. FAHEY Jr. Based on the National Conference on Forage Quality, Evaluation and Utilization held at the University of Nebraska, Lincoln, on 13-15 April 1994. American Society of Agronomy, Inc.; Crop Science Society of America, Inc. and Soil Science Society of America, Inc. Madison. Wisconsin (EEUU).
- CPADR (Consellería de Política Agroalimentaria e Desenvolvemento Rural), 2000. Anuario de Estatística Agraria 2000. Xunta de Galicia, 238 pp. Santiago de Compostela (España).
- CUSHNAHAN, A.; GORDON, F. J.; FERRIS, C. P.W.; CHESTNUTT, D. M. B.; MAYNE, C. S., 1994. The use of sheep as a model to predict the relative intakes of silages by dairy cattle. *Animal Production*, **59**, 415-420.
- DACCORD, R.; ARRIGO, Y.; VOGEL, R., 1996. Valeur nutritive de l'ensilage de maïs. *Revue Suisse d'Agriculture*, **28**, 17-21.
- 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.
- DAVIES, W.E.; GRIFFITH, G.; ELLINGTON, A., 1966. The assessment of herbage legume varieties. II. In vitro digestibility, water soluble carbohydrates, crude protein and mineral content of primary growth of clover and lucerne. *Journal of Agriculture Science (Cambridge)*, **66**, 351-357.
- DEAVILLE, E. R.; FLYNN, P. C., 2000. Near Infrared (NIR) spectroscopy: an alternative approach for the estimation of forage quality and voluntary intake. En: *Forage Evaluation in Ruminant Nutrition*, 247-260. Ed. D. I. GIVENS, E. OWEN; R. F. E. AXFORD, H. M. OHMED. CAB International. Wallingford (Reino Unido).
- De BOEVER, J.L.; COTTYN, B.G.; ANDRIES, J. I.; BUYASSE, 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.; De BRABANDER, D.L.; VANACKER, J.M.; BOUCQUE, C.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.; 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.; De BRABANDER, D.L.; VANACKER, J.M.; BOUCQUE, C.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**, 835-850.
- DEINUM, B., 1966. Chemical composition and nutritive value of herbage in relation to climate. En: *The impact of climate on grass production and quality*, 338-350. Proceedings of the 10<sup>th</sup> General Meeting of the EGF. Ed: H. RILEY; A. SKJELBAG. Norwegian State Research Station. Oslo (Noruega).
- DEINUM, B., 1988. Genetic and environmental variation in quality of forage maize in Europe. *Netherlands Journal of Agricultural Science*, **36**, 400-403.
- DEINUM, B.; BAKKER, J. J., 1981. Genetic differences in digestibility of forage maize hybrids. *Netherlands Journal of Agricultural Science*, **29**, 93-98.
- 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.; STRUIK, P. C., 1986. Improving the nutritive value of forage maize. En: *Breeding of silage maize*, 77-90. Ed. O. DOLSTRA; P. MIEDEMA. 13<sup>th</sup> Congress of the Maize and Sorghum Section, EUCARPIA. Wageningen (Holanda). 9-12 Sept. 1985. PUDOC. Wageningen (Holanda).
- DEINUM, VAN ES E VAN SOEST (en Van Soest, P. J., 1985. Definition of fibre in animal feeds. En: *Recent Advances in Animal Nutrition*, 55-70. Ed. W. HARESIGN Y D. J. A. COLE. Butterworths. Reino Unido
- DEMARQUILLY, C., 1973. Composition chimique, caractéristiques fermentaires, digestibilité et quantité ingérée des ensilages de fourrages: modifications par rapport au forage vert initial. *Annales de Zootechnie*, **22**, 1-35.
- 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. *INRA Productions Animales*, **5** (3), 213-221.
- DEMARQUILLY, C.; ANDRIEU, J.; MICHALET-DOREAU, B.; SAUVANT, D., 1989. Measurement of the nutritive value of feeds. En: *Ruminant nutrition: Recommended allowances and feed tables*, 193-211. Ed: R. JARRIGE. INRA y John Libbey Eurotext. París (Francia).
- DEMARQUILLY, C.; ANDRIEU, J.; WEISS, P., 1981. L'ingestibilité des fourrages verts et des foin et sa prévision. En: *Prévision de la valeur nutritive des aliments des ruminants*, 155-167. Ed. INRA publications. París (Francia).
- DEMARQUILLY, C.; JARRIGE, R., 1981. Panorama des méthodes de prévision de la digestibilité et de la valeur énergétique des fourrages. En: *Prévision de la valeur nutritive des aliments des Ruminants*. 155-167. Ed. INRA publications, París (Francia).
- DERIEUX, M., 1988. Breeding maize for earliness. Importance, development, prospects. En: *Maize breeding and maize production*, 35-46. Euromaize'88. Maize Research Institute. Zemun Polje. Belgrado (Rep. Serbia).
- 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.
- DOWMAN, M. G.; COLLINS, F. C., 1982. The use of enzymes to predict the digestibility of animal feeds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **33**, 689-696.

- DULPHY, J. P., 1980. *Proceedings of the British Grassland society, Occasional Symposium n° 11*, 107-121. Brighton (Reino Unido).
- DULPHY, J.; DEMARQUILLY, C., 1981. Problèmes particuliers aux ensilages. En: *Prévision de la valeur nutritive des aliments des ruminants*, 81-104. INRA publications. Paris (Francia).
- DULPHY, J. P.; DEMARQUILLY, C.; RÉMOND, B., 1989. Quantités d'herbe ingérées par les vaches laitières, les génisses et les moutons: effet de quelques facteurs de variation et comparaison entre ces types d'animaux. *Annales de Zootechnie*, **38**, 107-109.
- DULPHY, J. P.; FAVERDON, P.; JARRIGE, R., 1989. Feed intake: the Fill Unit systems. En: *Ruminant nutrition: Recommended allowances and feed tables*, 61-72. Ed: R. JARRIGE. INRA y John Libbey Eurotext. Paris (Francia).
- DULPHY, J.; MICHALET-DOREAU, B., 1981. Prévision de l'ingestibilité des ensilages d'herbe. En: *Prévision de la valeur nutritive des aliments des ruminants*, 169-188. INRA Publications. Versailles (Francia).
- DULPHY, J. P.; MICHALET-DOREAU, B., 1983. Comportement alimentaire et mérycique d'ovins et de bovins recevant des fourrages verts. *Annales de Zootechnie*, **32**, 465-474.
- DULPHY, J. P.; MICHALET-DOREAU, B.; DEMARQUILLY, C., 1984. Etude comparée des quantités ingérées et du comportement alimentaire et mérycique d'ovins et de bovins recevant des ensilages d'herbe réalisés selon différentes techniques. *Annales de Zootechnie*, **33**, 291-320.
- ERDMAN, R., 1993. Silage fermentation characteristics affecting feed intake. *Proceedings of the National Silage Production Conference*, 210-219. Syracuse. New York (EEUU).
- ENFIC (European Network of Feed Information Centres), 1997. In vivo digestibility for the organic components in ruminant diets. En: *Identification and harmonization of baseline data to be included in the database. Annex V of final report of the EU AIR concerted action "Animal Feed and Nutrition"*. Publicación electrónica accesible en: [home.planet.nl/~enfic/documents/Finalrepcnafndec2001corr1.doc](http://home.planet.nl/~enfic/documents/Finalrepcnafndec2001corr1.doc).
- FERNÁNDEZ-LEICEAGA, X.; LÓPEZ-IGLESIAS, E., 2000. *Estructura Económica de Galiza*. Ediciones Laiovento, 596 pp. Santiago de Compostela. Galicia (España).
- FLACHOWSKY, G.; SCHNEIDER, M., 1992. Influence of various straw-to-concentrate ratios on *in sacco* dry matter degradability, feed intake and apparent digestibility in ruminants. *Animal Feed Science and Technology*, **38**, 199-217.
- FLIPOT, P.; MASON, W.; LALANDE, G., 1984. Chemical composition and animal performance of grass forage of varying maturity stored as hay or silage. *Animal Feed Science and Technology*, **11**, 35-44.
- FLORES, G., 1985. Valor nutritivo del ensilado de hierba de pradera en Galicia. *Memoria del Centro de Investigaciones Agrarias de Mabegondo*, 136-139. Xunta de Galicia. A Coruña (España).
- FLORES, G., 2000. La contaminación por efluentes de ensilaje en las explotaciones gallegas. *Ciclo de conferencias sobre gestión y control de residuos ganaderos*. Escola Politécnica Superior, 25 Abril 2000. Lugo (España).
- FLORES, G.; AMOR, J.; RESCH, C.; GONZÁLEZ-ARRÁEZ, A., 2000a. Valor nutritivo del ensilaje de hierba en las explotaciones ganaderas de Galicia. *Pastos*, **XXX** (2), 149-191.
- FLORES, G.; CASTRO, J.; GONZÁLEZ-ARRÁEZ, A., 1996. Efecto de la estrategia de corte y de la utilización de un aditivo biológico sobre el valor nutritivo del ensilaje de pradera de raigrás inglés. *Actas XXXVI Reunión Científica SEEP*, 239-243.
- FLORES, G.; CASTRO, J.; GONZÁLEZ-ARRÁEZ, A.; AMIL, G.; BREA, T.; GONZÁLEZ-WARLETA, M., G., 2000b. Memoria final de resultados del Proyecto INIA SC97 072, titulado "Uso de aditivos biológicos en el ensilado de hierba para la producción de leche: Efecto sobre la calidad de fermentación, valor nutritivo y productividad animal", realizado en el CIAM entre 1997 y 2000, coordinado por G. Flores. (resultados no publicados).

- FLORES, G.; CASTRO, J.; GONZALEZ-ARRAEZ, A.; CASTRO, P.; CARDELLE, M.; AMIL, G., 2000c. *Informe final del Proyecto PGIDT005302PR "Valor nutritivo del ensilaje de maíz en Galicia. Estudio de los factores de variación"*. Xunta de Galicia. 42 pp.
- FLORES, G.; GONZALEZ-ARRAEZ, A.; CASTRO, J.; CASTRO, P.; CARDELLE, M., 2002a. Variabilidad de las determinaciones analíticas de silos de hierba de explotaciones gallegas muestreados mediante sonda. *Actas de la XLII Reunión Científica de la SEEP*, 445-450.
- FLORES, G.; GONZALEZ-ARRAEZ, A.; CASTRO, J.; PIÑEIRO, J.; CARDELLE, M., 2002b. Efecto de la estrategia de aprovechamiento del pasto para ensilar sobre la producción y composición química de tres gramíneas pratenses en el período primavera-verano. *Actas de la XLII Reunión Científica de la SEEP*, 479-484.
- FONNESBECK, P. V.; WARDEH, M. F.; HARRIS, I. E., 1984. Mathematical models for estimating energy and protein utilization of feedstuffs. *Bulletin 508, Utah Agricultural Experiment Station*. Logan. Utah (EEUU).
- GALVEZ, J. F.; ROSELLÓ, B., 1971. *Digestibilidad de los alimentos para el ganado*. Ministerio de Agricultura. pp. 61-75. Madrid (España)
- GARCIA-RODRIGUEZ, A.; IGARZABAL, A.; OREGUI, L.M.; FLORES, G., 2003a. Predicción de la digestibilidad aparente de la materia orgánica de silos de maíz mediante la técnica de producción de gas. *ITEA Vol Extra*, **24**, 708-710.
- GARCIA-RODRIGUEZ, A.; IGARZABAL, A.; LORENZO, L.; OREGUI, L.M.; FLORES, G., 2003b. Predicción de la digestibilidad aparente de la materia orgánica de silos de hierba mediante la técnica de producción de gas. I. Cálculo de las ecuaciones de predicción. *ITEA Vol Extra*, **24**, 711-713.
- GARCIA-RODRIGUEZ, A.; LORENZO, L.; IGARZABAL, A.; OREGUI, L.M.; FLORES, G., 2003c. Predicción de la digestibilidad aparente de la materia orgánica de silos de hierba mediante la técnica de producción de gas. II. Validación de las ecuaciones de predicción. *ITEA Vol Extra*, **24**, 714-717.
- 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.; DEAVILLE, E. R., 2001. Comparison of major carbohydrate fractions and cell wall digestibility in silages made from older and newer genotypes grown in the UK. *Animal Feed Science and Technology*, **89**, 69-82.
- GIVENS, D.I.; EVERINGTON, J.M.; ADAMSON, A.H., 1989. The digestibility and metabolisable energy content of grass silage and their prediction from laboratory measurements. *Animal Feed Science and Technology*, **24**, 27-43.
- GIVENS, D. I.; EVERINGTON, J. M.; ADAMSON, A. H., 1990. The nutritive value of spring-grown herbage produced on farms throughout England and Wales over 4 years. II. The prediction of apparent digestibility *in vivo* from various laboratory measurements. *Animal Feed Science and Technology*, **27**, 173-184.
- 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.; VAN SOEST, P., 1970. *Forage Fiber Analysis (Apparatus, Reagents, Procedures and some applications)*. U.S.D.A. Agriculture Handbook nº 379, 1-12. 20 pp. EEUU
- GRASSLAND RESEARCH INSTITUTE, 1961. Determination of the dry matter content of herbage, faeces and silage. En: *Research Techniques in use at the Grassland Research Institute*. Hurley (Reino Unido).
- GROSS, F. A.; AVERDUNK, G., 1974. Der Gehalt an Nährstoffen in Maissilagen, ihre Verdaulichkeit und ihre Beziehungen zum Trockensubstanzgehalt. *Das wirtschaftseigene Futter*, **20**, 66-74.

- HAIGH, P. M., 1987. The effect of dry matter content and silage additives on the fermentation of grass silages in commercial farms. *Grass and Forage Science*, **42**, 1-18.
- HAIGH, P. M., 1995. A note on the relationship between oven and toluene determined dry matter concentration in bunker-made grass silages. *Irish Journal of Agricultural Research*, **34**, 63-67.
- HARRIS, C. F.; RAYMOND, W. F., 1963. The effect of ensiling on crop digestibility. *Journal of the British Grassland Society*, **18**, 204-212.
- HARTLEY, R.D., 1974. Prediction of the digestibility of forages by treatment of their cell walls with cellulolytic enzymes. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **25**, 947-956.
- HAVILAH, E. J.; KAISER, A. G.; NICOL, H., 1995. Use of a kernel milkline score to determine stage of maturity in maize crops harvested for silage. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, **35**, 739-743
- HEANEY, D. P., 1979. Sheep as pilot animals. En: *Standardization of analytical methodology for feeds*, 44-8. Ed: W.J. PIDGEN; C.C. BALCH; M. GRAHAM Proceedings of a workshop held in Ottawa, Canada, 12-14 March 1979. IDRC-134e.
- HOFFMAN, P. C., 2003. New developments in analytical evaluation of forages and total mixed rations. Publicación electrónica de la Universidad de Wisconsin (EEUU) accesible en <http://www.uwex.edu/ces/forage/wfc/proceedings2003/hoffman.htm>.
- INSTITUTO GALEGO DE ESTADÍSTICA, 2000. *Enquisa de bovino 2000*. Publicación electrónica [http://www.xunta.es/auto/ige/ga/economicas/agro\\_pesca/bovino/index2000.htm](http://www.xunta.es/auto/ige/ga/economicas/agro_pesca/bovino/index2000.htm). Consellería de Economía. Xunta de Galicia.
- JARRIGE, R.; DEMARQUILLY, C.; DULPHY, J.P., 1974. The voluntary intake of forages. *Proceedings of the 5th General Meeting of the European Grassland Federation*, 98-106. Uppsala (Suecia).
- JARRIGE, R.; DEMARQUILLY, C.; DULPHY, J. P.; HODEN, A.; JOURNET, M.; BÉRANGER, C.; GEAY, Y.; MALTERRE, C.; MICOL, D.; PETIT, M.; ROBÉLIN, J., 1979. Le système des Unités d'Encombrement pour les bovins. *Bulletin Technique CRZV Theix*, INRA, **38**, 57-59.
- 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.
- JONES, B.A.; HATFIELD, R.D.; MUCK, R.E., 1995. Characterization of proteolysis in alfalfa and red clover. *Crop Science*, **35**, 537-541
- JONES, D. I. H.; HAYWARD, M. V., 1973. A cellulase digestion technique for predicting the dry matter digestibility of grasses. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **24**, 1419-1426.
- 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.
- JUDKINS, M. B.; KRYSL, L. J.; BARTON, R. K., 1990. Estimating diet digestibility: A Comparison of 11 techniques across six different diets fed to rams. *Journal of Animal Science*, **68**, 1405-1415.
- KEADY, T. W. J.; O'KIELY, P., 1996. Effects of potassium and nitrogen fertilisation and formic acid treatment on silage composition, in-silo losses and feeding value. *Proceedings of the 11th Silage Conference*, 128-129. Ed. D. I. H. JONES, R. JONES, R. DEWHURST, R. MERRY, P. M. HAIGH. IGER Aberystrwyth. Gales (Reino Unido).
- KERTZ, A. F.; BARTON, B. A. ; REUTZEL, L. F., 1998. Relative Efficiencies of Wither Height and Body Weight Increase from Birth Until First Calving in Holstein Cattle. *Journal of Dairy Science*, **81**, 1479-1482.

- KITTESSA, S.; FLINN, P. C.; IRISH, G.G., 1999. Comparison of methods used to predict the *in vivo* digestibility of feeds in ruminants. *Australian Journal of Agriculture Research*, **50**, 825-841.
- KORVA, J.; TUORI, M., 1986. Prediction of the digestibility of silage and hay from the crude fibre and crude protein content. *Journal of Agricultural Science in Finland*, **58**, 175-183.
- LUCAS, H.L.; SMART, W.W.G., 1959. Chemical composition and digestibility of forages. *Report to XVI<sup>th</sup> Southern Pasture and Forage Crop Conference*, 23-26. Citado en: Carlier *et al.* (1976).
- MAFF, 1992. *Feed composition – UK tables of Feed Composition and Nutritive Value for Ruminants*. 2<sup>nd</sup> Edition. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food Standing Committee on Tables and Feed Composition. Chalcombe Publications, 69 pp. Canterbury (Reino Unido).
- MAPA, 1995. Métodos Oficiales del MAPA. *BOE n° 52, del 2 de marzo*, 7167.
- MBWILE, R.P.; UDEN, P., 1991. Comparison of laboratory methods on precision and accuracy of predicting forage organic matter digestibility. *Animal Feed Science and Technology*, **32**, 243-251.
- McDONALD, P.; HENDERSON, N.; HERON, S., 1991. *The Biochemistry of Silage*. 2<sup>nd</sup> edition. Chalcombe Publications, 340 pp. Marlow. Bucks. (Reino Unido).
- MERTENS, D.R., 1973. *PhD Thesis*. Cornell University. Ithaca, Nueva York, EEUU. (citado en Van Soest, 1985).
- MICHALET-DOREAU, B.; DEMARQUILLY, C., 1981. Prévission de la valeur énergétique des ensilages d'herbe. En: *Prévission de la valeur nutritive des aliments des Ruminants*, 105-117. Ed. INRA publications. París (Francia).
- MICHELL, P. J., 1973. Relations between fibre and water soluble carbohydrate contents of pasture species and their digestibility and voluntary intake by sheep. *Australian Journal of Experimental Agriculture and Animal Husbandry*, **13**, 165-170.
- MINISTRY OF AGRICULTURE, FISHERIES AND FOOD, 1987. *Feed composition. U.K. tables of feed composition and nutritive value for ruminants*. Chalcombe Publications, 52 pp. Marlow. Bucks (Reino Unido).
- MINSON, D. J., 1982. Effect of chemical composition on feed digestibility and metabolizable energy. *Nutrition Abstracts and Reviews, Series B*, **52**, 592-614.
- MINSON, D. J., 1987. Relationships of conventional and preferred fractions to determined energy values. En: *Standardization of analytical methodology for feeds*, 72-78. Ed. W.J. PIDGEN; C.C. BALCH; M. GRAHAM. Proceedings of a workshop held in Ottawa, Canada, 12-14 March 1979. IDRC-134e.
- MINSON, D., 1990. *Forage in ruminant nutrition*. Academic Press Inc., 483 pp. Nueva York (EEUU).
- MINSON, D. J.; HARRIS, C. E.; RAYMOND, W. F.; MILFORD, R., 1964. The digestibility and voluntary intake of S22 and H1 ryegrass, S170 tall fescue, S48 timothy, S215 meadow fescue and Germinal cocksfoot. *Journal of the British Grassland Society*, **19**, 298-305.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC), 2001. *Nutrient Requirements of Dairy Cattle, 2001*. 7<sup>th</sup> Ed. National Academy Press, 381 pp. Washington DC. (EEUU).
- NORRIS, K. H.; BARNES, R. F.; MOORE, J. E.; SHENK, J. S., 1976. Predicting forage quality by infrared reflectance spectroscopy. *Journal of Animal Science*, **43**, 889-897.
- NOUSIAINEN, J.; RINNE, M.; HELLAMAKI, M.; HUHTANEN, P., 2003. Prediction of the digestibility of the primary growth of 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.; HELLAMAKI, M.; HUHTANEN, P., 2003. Prediction of the digestibility of the 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.

- NOZIERE, P.; MICHALET-DOREAU, B., 2000. *In sacco* methods. En: *Farm Animal Metabolism and Nutrition*, 233-254. Ed. J. P. F. D'MELLO. CAB International. Wellington (Reino Unido).
- OFFER, N., 1993. Background to the new *in vivo* ME silage prediction equation. *Proceedings of the 1993 Society of Feed Technologists Conference*. Reading (Reino Unido).
- ØRSKOV, B., 1999. Technique of *in vivo* determination of intake and digestibility of forages. En: *Evaluation of the nutritive value of Mediterranean roughages. Results and researches carried out within the CAMAR EC/DG.VI Programme, contract 8001-CT90-0022.*, 37-38. Ed. J.L. TISSERAND. CIHEAM/EC-DG.VI. Zaragoza (España)
- ØRSKOV, E. R., 2000. The *in situ* technique for the estimation of forage degradability. En: *Forage evaluation in Ruminant Nutrition*, 175-188. Ed. D. I. GIVENS, E. OWEN, R.F.E. AXFORD, H. M. OMED. CABI Publishing,. Wallingford (Reino Unido).
- ØRSKOV, E. R.; HOWELL, F. D.; MOULD, F., 1980. The use of the nylon bag technique for the evaluation of feedstuffs. *Tropical Animal Production*, **5**, 195-213.
- 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 silages. *Animal Feed Science and Technology*, **68**, 235-246.
- PHIPPS, R.H.; WELLER R.F.; FULFORD R. J., 1979. The development of plant components and their effects on the composition of fresh and ensiled forage maize. 3. The effect of grain content on milk production. *Journal of Agriculture Science, Cambridge*, **92** 493-498
- PHIPPS, R.; WILKINSON, M., 1985. *Maize Silage*. Chalcombe Publications, 48 pp. Marlow. Bucks (Reino Unido).
- PLAYNE, M. J., 1978. Estimation of the digestibility of low-quality hays by cattle from measurements made with sheep. *Animal Feed Science and Technology*, **3**, 51-55.
- POOLE, A. H.; ASTON, K.; SUTTON, J.D., 1992. *Milk from grass silage*. A summary of an MMB sponsored research programme at IGER. March 1992. Hurley (Reino Unido).
- POPPI, D. P.; MINSON, D. J.; TERNOUTH, J. H., 1981. Studies of cattle and sheep eating leaf and stem fractions of grasses. II. Factors controlling the retention of feed in the reticulo-rumen. *Australian Journal of Agriculture Research*, **32**, 09-121.
- RAYMOND, W. F., 1969. The nutritive value of forage crops *Advances in Agronomy*, **21**, 1-108
- RAYMOND, W.F.; HARRIS, C. E.; HARKER, V. G., 1953. Studies on the digestibility of herbage. 1.- Technique of measurement of digestibility and some observations on factors affecting the accuracy of digestibility data. *Journal of the British Grassland Society*, **8**, 301-314
- REID, D., 1982. The sward: Its composition and management. En: *Silage for milk production. Technical Bulletin 2*, 39-62. Ed. J. A. F. ROOK, P. C. THOMAS. National Institute for Research in Dairying. Reading (Inglaterra) y Hannah Research Institute. Ayr (Escocia).
- REID, J. T.; KENNEDY, W. K.; TURK, K. L.; SLACK, S. T.; TRIMBERGER, G. W.; MURPHY, R. P., 1959. Effect of growth stage, chemical composition and physical properties upon the nutritive value of forages. *Journal of Dairy Science*, **42**, 567-582.
- RIVEROS, E.; ARGAMENTERÍA, A., 1987. Métodos enzimáticos de la predicción de la digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica de forrajes. I Forrajes verdes. II Ensilados y pajas. *Avances en Producción Animal*, **12**, 49-58.
- RODRÍGUEZ-PÉREZ, A., 1989. Aproximación al análisis económico de la producción de forrajes a través del coste de producción. *Memoria anual del Centro de Investigaciones Agrarias de Mabegondo, Año 1989, 199-201*. A Coruña (España).

- RODRIGUEZ-BECEIRO, U., 1999. *A Concentración Parcelaria nas explotacións de leite da Galiza*. Trabajo final de Carrera. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos. Universidad de Santiago de Compostela, 170 pp. Lugo (España).
- ROZA, B. DE LA; MARTÍNEZ, A.; CORNEJO, E.S.; ARGAMENTERÍA, A. 1992. Calidad nutritiva de los forrajes asturianos. *Actas de la XXXII Reunión Científica de la SEEP*, 161-164.
- ROZA DE LA, B.; MODROÑO, S.; MARTÍNEZ, A., 1999. Calidad de los forrajes en el verano. *Tecnología Agroalimentaria CIATA, Edición especial 1999*. Asturias (España).
- ROZA DE LA, B.; SANTOS, B.; MIRANDA, J.; DÍEZ, E.; ALFAGEME, L., ARGAMENTERÍA, A., 1995. Evolución del valor nutritivo del maíz forrajero en verde en zona húmeda, según su contenido en materia seca. *Actas de la XXXV Reunión Científica de la SEEP*, 217-221.
- RUSSELL, J. R., 1986. Influence of harvest date on the nutritive value and ensiling characteristics of maize stover. *Animal Feed Science and Technology*, **14**, 11-27. S INSTITUTE, 2000. SAS/Stat User's Guide, V. 8.1, SAS Institute Inc. Cary, NC (EEUU).
- SCALET, M.; ALPI, A.; PICCIARELLI, P., 1984. Proteolytic activities in alfalfa (*Medicago sativa* L.) leaves. *Journal of Plant Physiology*, **116**, 133-145.
- SCHMID, A.R.; GOODRICH, R.D.; MARTEN, G.C.; MEISKE, J.C.; JORDON, R.M.; HOLGERSON, J.L., 1975. Evaluation of laboratory methods for determining quality of corn and sorghum silages: I. Biological methods of predicting in vivo digestibility. *Agronomy Journal*, **67**, 243-246.
- SMITH, L. W.; GOERING, H. K.; GORDON, C. H., 1972. Relationships of forage composition with rates of cell wall digestion and digestibility of cell walls. *Journal of Dairy Science*, **55**, 1140-1147.
- STILMANT, D.; LECOMTE, P.; FABRY, L., 1999. Diversité de la valeur alimentaire de fourrages conservés dans trois régions belges. *Fourrages*, **155**, 389-395.
- STERN, M. y ENDRES, M., 1991. *Laboratory Manual. Research Techniques in Ruminant Nutrition*. Department of Animal Science. University of Minnesota (EEUU).
- SUSMEL, P.; STEFANON, B.; MILLS, C. R., 1991. General problems in assessing the nutritive value of Mediterranean forages. *Options Méditerranéennes-Serie Séminaires*, **16**, 17-22.
- SUTTER, A. 1957. *Project n° 307*, 74-82. The European Productivity Agency of the Organization for European Economic Cooperation. Citado en McDonald *et al.* (1991).
- 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.
- TELLER, E.; VANVBELLE, M.; FOULON, M.; COLLIGNON, G.; MATAU, B., 1992. Nitrogen metabolism in rumen and whole digestive tract of lactating dairy cows fed grass silage. *Journal of Dairy Science*, **75**, 1296-1304.
- 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.
- 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.; VELEZ, 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.

- 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*, 279-288. Euromais 1979. Ed. E.S.BUNTING. Cambridge (Reino Unido).
- VAN ES, A. J. H., 1975. Feed evaluation for dairy cows. *Livestock Production Science*, **2**, 95-107.
- VAN ES, A. J. H., 1979. Evaluation of the energy value of feeds: overall appreciation. En: *Standardization of analytical methodology for feeds*. Ed. W.J. PIDGEN; C.C. BALCH; M. GRAHAM. Proceedings of a workshop held in Ottawa, Canada, 12-14 March 1979. Ottawa (Canadá).
- 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*. O & B Books, 374 pp. Corvallis. Oregón (EEUU).
- VAN SOEST, P.J., 1983. *Nutritional Ecology of the Ruminant*, 2<sup>nd</sup> ed. O & B Books, 374 pp. Corvallis. Oregón (EEUU).
- VAN SOEST, P. J., 1985. Definition of fibre in animal feeds. En: *Recent Advances in Animal Nutrition*, 55-70. Ed. W. HARESIGN, D. J. A. COLE. Butterworths. Londres (Reino Unido).
- VAN SOEST, P. J.; MERTENS, D. R., 1977. Analytical parameters as guides to forage quality. *Proceedings of the International Meeting on Animal Production for Temperate Grassland*, 50-52. Dublin, Junio 1977. Irish Grassland and Animal Production Association. Dublin (Irlanda).
- 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.; 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**, 3583-3597.
- VAN WAES, C.; CARLIER, I. De BOEVER, J., 1997. Ringtest for the determination of the digestibility in forage grasses. En: *Breeding for a multifunctional agriculture*, 234-237. Ed. B. BOLLER; F. J. STADELMANN. Proceedings of the 21<sup>th</sup> Meeting of the Fodder Crops and Amenity Grasses section of Eucarpia. Kartause Ittingen (Suiza). 9-12 Septiembre 1997.
- VERBIC, J.; STEKAR, J. M. A.; ROSNIK-CEPON, M., 1995. Rumen degradation characteristics and fiber composition of various morphological parts of different maize hybrids and possible consequences for breeding. *Animal Feed Science and Technology*, **54**, 133-148.
- VÉRITÉ, R.; PEYRAUD, J.L., 1989. Protein: the PDI systems. En: *Ruminant nutrition: Recommended allowances and feed tables*, 33-48. Ed. R. JARRIGE. INRA y John Libbey Eurotext. París (Francia).
- VERMOREL, 1989. Energy: the Feed Unit System. En: *Ruminant nutrition: Recommended allowances and feed tables*, 23-32. Ed. R. JARRIGE. INRA y John Libbey Eurotext. París (Francia).
- VERMOREL, M.; COULON, J. B.; JOURNET, M., 1987. Révision du système des unités fourragères (UF). *Bulletin Technique C. R. Z. V. Theix, I. N. R. A.*, **70**, 9-18.
- WAINMAN, F. W.; DEWEY, P. J. S.; BOYNE, A. W., 1976. *2<sup>nd</sup> Annual Report of the Feed Evaluation Unit, Rowett Research Institute*, 1-36.
- WEISS, W. P., 1993. Predicting energy values of feeds. *Journal of Dairy Science*, **76**, 1802-1811.
- WEISS, W.P., 1994. Estimation of digestibility of forages by laboratory methods. En: *Forage Quality, Evaluation and Utilization*, 644-681. Ed: G. C. FAHEY Jr. Based on the National Conference on Forage Quality, Evaluation and Utilization held at the University of Nebraska, Lincoln, on 13-15 April 1994. American Society of Agronomy, Inc.; Crop Science Society of America, Inc. and Soil Science Society of America, Inc. Madison, Wisconsin (EEUU).

- WEISS, W.P., 1996. Estimating available energy content in ruminant feeds. *Proceedings of the California Nutrition Conference*, Fresno, California (EEUU).
- WELLER, R.F.; JONES, E., 2002. An overview on the role and potential of forage production on lowland organic livestock farms. En: *UK Organic Research 2002*, 81-84. . Ed. POWELL *et al.* Proceedings of the COR Conference, 26-28th March 2002. Aberystwyth (Reino Unido).
- WILKINS, R. J., 1969. The potencial digestibility of cellulose in forage and faeces. *Journal of Agriculture Science*, **73**, 57-64.
- WILKINS, R. J., 1974. The nutritive value of silages. *University of Nottingham Nutrition Conference for Feed Manufacturers*, **8**, 167-189. Ed. H. SWAN; D. LEWIS. Butterworth. Londres (Reino Unido).
- WILKINS, R. J.; HUTCHINSON, K.J.; WILSON, R. F.; HARRIS, C.E., 1971. The voluntary intake of silage by sheep. *Journal of Agricultural Science (Cambridge)*, **77**, 531-537
- WILLIAMS, P. C.; SOBERING, D. C., 1996. How we do it: A brief summary of the methods we use in developing near infrared calibrations. En: *Near Infrared Spectroscopy: The Future Waves*, 185-188. Ed. A.M.C. DAVIES; P. WILLIAM. NIR Publications. Chichester (Reino Unido).
- WILLIAMS, P. C., 1987. Variable affecting Near-Infrared Reflectance Spectroscopy Analysis. En: *Near Infrared Technology in the Agricultural and Food Industries*, 143-167. Ed. P.C. WILLIAMS; K. NORRIS. American Association of Cereal Chemists Inc. St. Paul. Minnesota (EEUU).
- YAN, T.; AGNEW, R. E., 2000. Validation of the UK metabolisable energy system and other energy systems. *Proceedings of the British Society of Animal Science, Annual Meeting 2000*, 95. Sacraborough (Reino Unido).

## PREDICTION OF HERBAGE AND MAIZE SILAGES *IN VIVO* ORGANIC MATTER DIGESTIBILITY BY LABORATORY METHODS

### SUMMARY

The available information about the predictive ability of different laboratory methods for the estimation of the *in vivo* organic matter digestibility (DMO) of forages is reviewed in the first part of this paper. A study conducted at the Centro de Investigaciones Agrarias de Mabegondo (CIAM) de A Coruña (Spain) with the objective of evaluating methods for the prediction of DMO of herbage and maize silages is detailed in the second part. The study was based on two collections of 197 samples herbage and 93 samples of whole-plant maize silages, which were evaluated *in vivo* at the CIAM facilities during several years. Laboratory methods included regressions based on the usual wet chemistry determinations in forage samples and three biological techniques: Tilley-Tilley (DoTT), neutral detergent fiber-cellulase (DoNDC) and pepsin-cellulase (DoPC) *in vitro* digestibility methods. Additionally, *in situ* dry matter disappearance was measured in a subset of 46 maize silage samples. The results were compared with those obtained by other Spanish researchers who evaluated the predictive DMO performance of the *in vitro* gas and NIRS techniques using the same sample collections. Mean DMO (%) values were  $67,8 \pm 6,7$  (range 48,5 to 81,0) and  $68,6 \pm 3,2$  (range 59,1 to 76,8) for herbage and maize silages, respectively.

For herbage silage samples, the minimum prediction error (measured in terms of the residual standard deviation of crossvalidation,  $RSD_{cv}$ ) of the univariate models including DoTT and DoNDC was  $\pm 3,5$  and  $\pm 3,8$  DMO units, respectively, for the whole collection. For a subset of 64 samples in which DoPC was also determined,  $RSD_{cv}$  values were  $\pm 3,2$ ,  $\pm 3,7$  and  $\pm 3,5$  units for DoTT, DoNDC and DoPC, respectively. Whilst DoNDC and DoPC values tended to underpredict DMO by 6 and 4 units on average, respectively, average DoTT value was very close to the mean DMO value. The best model based on chemical parameters, which included neutral detergent fiber (FND), crude protein (PB) and acid detergent lignin (LAD), estimated DMO with a prediction error of  $\pm 4,3$  units. The gas production technique, evaluated by other authors on a subset of 72 herbage silage samples from the same collection performed similarly, in terms of  $RSD_{cv}$ , compared with DoTT. For NIRS technique, the reported prediction error in crossvalidation, using the whole collection, was  $\pm 2,9$  units.

For maize silages,  $RSD_{cv}$  values for the univariate models including DoTT, DoNDC and DoPC was  $\pm 2,3$ ,  $\pm 2,7$  y  $\pm 2,8$  units, and  $\pm 2,4$  for the best multivariate model including LAD, PB and crude fiber (FB) as predictors. In contrast with herbage silages, DoTT maize silage values were, on average, 6 units higher than DMO, whilst DoNDC and DoPC values underpredicted mean DMO value by 2,7 and 3,4 units on average, respectively, showing the same tendency observed with herbage silages. Dry matter disappearance after 72 h of incubation was the best degradability parameter for DMO estimation, the precision of this method being comparable to that of DoTT. The prediction error reported for the *in vitro* gas technique in a subset of 64 samples of the maize silage collection was also very close to the observed with the Tilley-Terry method. NIRS technique reported performance was better than that of any of the other methods, with a  $RSD_{cv}$  of  $\pm 2,0$  DMO units.

The relative accuracy of the different methods of DMO estimation was higher for the herbage than for the maize silage samples. NIRS technique proved superior to the rest of the other laboratory methods, both for herbage and silage samples. Predictive ability of Tilley-Terry and *in vitro* gas production technique was deemed adequate for both type of samples, whilst enzymatic solubility methods could be useful for herbage silages, but not for maize silages, since they were unable to improve the precision attained by empirical equations based on chemical analysis.

**Key words:** Forages, estimation, energetic value, models, comparison.