



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

Estimación del consumo voluntario y digestibilidad de la materia orgánica en ovinos mediante el análisis fecal por espectroscopia de reflectancia infrarroja cercana

Diana Marcela Parra Forero

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de medicina veterinaria y zootecnia
Bogotá, Colombia

2022

Estimación del consumo voluntario y digestibilidad de la materia orgánica en ovinos mediante el análisis fecal por espectroscopia de reflectancia infrarroja cercana

Diana Marcela Parra Forero

Tesis o trabajo de investigación presentada(o) como requisito parcial para optar al título de:

Magister en Producción animal

Director (a):

PhD., MSc, Z., Claudia Janeth Ariza Nieto

Línea de Investigación:

Nutrición Animal

Grupo de Investigación:

Microbiología y Nutrición Animal del Trópico

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, Departamento de Ciencias para la
Producción Animal

Bogotá D.C., Colombia

2022

Dedicatoria

Dedico esta tesis a mi padre Pablo (q.e.p.d) que me dio todo su amor y comprensión, enseñándome a valorar a los animales y sus cuidados.

A mi madre Eraides y hermano William que me apoyaron con todo su amor.

A Franco, mi hijo por su ternura, amor, alegría y comprensión.

A Yesid, mi esposo que siempre estuvo a mi lado brindándome su amor y apoyo en todos los aspectos y la tranquilidad que me transmite a diario.

Declaración de obra original

Yo declaro lo siguiente:

He leído el Acuerdo 035 de 2003 del Consejo Académico de la Universidad Nacional. «Reglamento sobre propiedad intelectual» y la Normatividad Nacional relacionada al respeto de los derechos de autor. Esta disertación representa mi trabajo original, excepto donde he reconocido las ideas, las palabras, o materiales de otros autores.

Cuando se han presentado ideas o palabras de otros autores en esta disertación, he realizado su respectivo reconocimiento aplicando correctamente los esquemas de citas y referencias bibliográficas en el estilo requerido.

He obtenido el permiso del autor o editor para incluir cualquier material con derechos de autor (por ejemplo, tablas, figuras, instrumentos de encuesta o grandes porciones de texto).

Por último, he sometido esta disertación a la herramienta de integridad académica, definida por la universidad.



Diana Marcela Parra Forero

Fecha 08/06/2022

Agradecimientos

Agradezco primero a Dios por permitir que esta etapa se diera de la mejor manera y ayudarme a siempre a tener fe.

A la doctora Claudia Ariza por todo el tiempo compartido, por la confianza depositada en mí, por sus consejos, su apoyo en varios aspectos y todas las enseñanzas brindadas durante este proceso.

A Agrosavia por el apoyo en la ejecución de este trabajo, a la doctora Olga Mayorga líder del proyecto y al Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural por el financiamiento del proyecto “Uso integral de estrategias tecnológicas para el fortalecimiento y sostenibilidad de la ganadería colombiana desde la cría”, del cual hizo parte este trabajo de tesis y a la líder del laboratorio de química analítica del C.I. Tibaitata Yeni Rodriguez.

A la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia de la Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá y sus docentes.

A mis compañeros de trabajo y amigos Javier Castillo, Lady Molano, Ronnal Ortiz, Ana Calvo, Daniel Torres, Stella Rodriguez, Juan Vargas, Andres Cubides y Lucio Salazar por todo su apoyo y amistad, especialmente a Deisy Camargo, Andrea Sierra, Edgar Mancipe quienes aportaron de diferentes formas en la ejecución de las actividades relacionadas con este trabajo, por la energía positiva que siempre me transmiten y también por su amistad incondicional.

A Leonardo Téllez y a Magaly Suarez por el apoyo en cuanto al manejo de los animales y su alimentación durante los bioensayos, por sus aportes logísticos y amistad.

A Yesid Avellaneda, por todos sus consejos, aportes y apoyo en todos los momentos durante este proceso.

Resumen

La digestibilidad y el consumo son dos de los principales parámetros que definen la calidad de un forraje, sin embargo, estos parámetros son difíciles y costosos de estimar. La tecnología NIRS aplicada a las heces (NIRSf) puede ser una alternativa rápida y económica para predecir la digestibilidad y el consumo voluntario en ovinos con suficiente precisión. El objetivo de este trabajo fue calibrar ecuaciones NIRSf para predicción de digestibilidad y consumo voluntario de ovinos. Los bioensayos para evaluar seis regímenes alimenticios: Kikuyo; Ryegrass; Kikuyo+Angleton; Kikuyo+Alfalfa; Kikuyo+Tilo; Kikuyo+Ensilaje de maíz, emplearon cinco ovinos en confinamiento durante seis días de medición. Se utilizaron métodos gravimétricos, uso de marcadores interno (FDNi) y externo (Cr_2O_3) y análisis por espectroscopia para estimar los parámetros evaluados. El forraje ofrecido, rechazado y la excreción fecal fueron pesados y colectados diariamente. Las muestras secas, molidas y tamizadas a 1 mm fueron escaneadas en el segmento espectral 400-2500 nm. Las lecturas fecales se obtuvieron del promedio de cada animal para cada régimen alimenticio evaluado. El análisis quimiométrico se realizó por el método de mínimos cuadrados parciales modificados, a los espectros se les aplicó pretratamientos matemáticos usando la primera y segunda derivada. Las calibraciones se evaluaron por medio del coeficiente de determinación en la validación cruzada (R^2), el error estándar de la validación cruzada (SECV) y la desviación predictiva residual (RPD). Se obtuvieron promedios por el método gravimétrico para DMS de 51.5 %, DMO de 53.6%, CVMS de 1.3 kg/d y CVMO de 1.07 kg/d. Se lograron mejores calibraciones para DMS y DMO fue cuando se utilizó como método de referencia el marcador interno FDNi con la segunda derivada (2.4.4.1) y el segmento Vis+NIR con R^2 0.67 y 0.71, RPD 1.78 y 1.89, respectivamente. Los mejores modelos predictivos para CVMS y CVMO expresado en kilogramos por día fue cuando se utilizó como referencia el método de marcadores con el tratamiento matemático (2.8.8.1) y el segmento NIR con R^2 0.84 y 0.84, RPD 2.58 y 2.52, respectivamente, mientras que para CVMS y CVMO ajustado por el peso metabólico fue cuando se utilizó como referencia el método gravimétrico con el tratamiento matemático (2.8.8.1) y el segmento NIR con R^2 0.77 y 0.78, RPD 2.11 y 2.16, respectivamente. Se concluye que el uso de NIRSf tiene potencial para la predicción de la digestibilidad y el consumo en ovinos en confinamiento, que a futuro se puede convertir en una herramienta que pueda facilitar el manejo nutricional de rumiantes en Colombia.

Palabras clave: análisis espectral, forraje, heces, marcadores, nutrición animal.

Abstract

Estimation of voluntary intake and digestibility of organic matter in sheep by means of fecal analysis by near-infrared reflectance spectroscopy

Digestibility and voluntary intake are two of the main parameters that define the quality of a forage, however, these parameters are difficult and expensive to estimate. NIRS technology applied to feces (F-NIRS) can be a fast and cheap alternative to predict digestibility and voluntary intake in sheep with sufficient precision. The objective of this study was to calibrate NIRS equations for prediction of digestibility and voluntary intake of sheep. Bioassays to evaluate six nutritional regimens: Kikuyu; Ryegrass; Kikuyo+Angleton; Kikuyo+Alfalfa; Kikuyo+Tilo; Kikuyo+corn silage, used five sheep in confinement for six days of measurement. Gravimetric methods, use of internal (iNDF) and external (Cr_2O_3) markers and spectroscopy analysis were used to estimate the evaluating parameters. Offered and orts forage and fecal excretion were weighed and collected daily. The dried, ground and 1 mm screen samples were scanned in the 400-2500 nm spectral segment. Fecal spectra will be acquired from the average of each animal for each feeding regimen evaluated. The chemometric analysis was performed by the method of partially modified least squares, mathematical pretreatments were applied to the spectra using the first and second derivatives. Calibrations were evaluated using the cross-validation coefficient of determination (R^2), the cross-validation standard error (SECV), and the residual predictive deviation (RPD). The averages would be increased by the gravimetric method for DMD of 51.5%, OMD of 53.6%, DMVI of 1.3 kg/d and OMVI of 1.07 kg/d. The best calibrations for DMS and OMD were achieved when the internal marker FDNi with the second derivative (2.4.4.1) and the Vis+NIR segment with R^2 0.67 and 0.71, RPD 1.78 and 1.89, respectively, were obtained as the reference method. The best predictive models for CVMS and CVMO expressed in kilograms per day was when the marker method was obtained as reference with the mathematical treatment (2.8.8.1) and the NIR segment with R^2 0.84 and 0.84, RPD 2.58 and 2.52, respectively, while that for DMVI and OMVI adjusted for metabolic weight was obtained when the gravimetric method with the mathematical treatment (2.8.8.1) and the NIR segment with R^2 0.77 and 0.78, RPD 2.11 and 2.16, respectively, were obtained as reference. It is concluded that the use of NIRSf has potential for the prediction of digestibility and consumption in sheep in confinement, which in the future can become a tool that can facilitate the nutritional management of ruminants.

Keywords: animal nutrition, feces, forage, markers, spectral analysis.

Contenido

Introducción.....	18
1 Capítulo 1. Potencial de la tecnología NIRSf para la predicción del consumo y la digestibilidad en rumiantes.	19
1.1 Factores que afectan el consumo voluntario en rumiantes.....	19
1.2 Metodologías para la medición del consumo voluntario.....	21
1.2.1 Métodos directos	22
1.2.2 Métodos indirectos.....	22
1.3 Fundamento de la tecnología NIRS fecal	24
1.4 Uso de NIRSf para la estimación de digestibilidad y consumo voluntario de forrajes por rumiantes	26
2 Capítulo 2: Ecuaciones NIRSf para la estimación del consumo voluntario y digestibilidad de la materia orgánica en ovinos en confinamiento por método gravimétrico	31
2.1. Introducción.....	31
2.2. Materiales y métodos	33
2.2.1. Obtención de muestras.....	33
2.2.2. Procesamiento de muestras	35
2.2.3. Estimación de consumo voluntario y digestibilidad por método gravimétrico.....	36
2.2.4. Análisis de espectroscopia	37
2.2.5. Calibración de ecuaciones NIRSf	37
2.2.6. Análisis estadístico	40
2.3. Resultados y discusión.....	39
2.3.1. Consumo voluntario y digestibilidad de materia orgánica por método gravimétrico.....	39
2.3.2. Calibración de ecuaciones para consumo voluntario y digestibilidad por método gravimétrico.....	45
3 Capítulo 3: Ecuaciones NIRSf para la estimación del consumo voluntario y digestibilidad de la materia orgánica en ovinos en confinamiento por método de marcadores	53
3.1 Introducción.....	53
3.2 Materiales y métodos	55
3.2.1 Procesamiento de muestras	56

X Estimación del consumo voluntario y digestibilidad de la materia orgánica en ovinos mediante el análisis fecal por espectroscopia de reflectancia infrarroja cercana

3.2.2	Estimación de consumo voluntario y digestibilidad por método de marcadores	59
3.2.3	Análisis de espectroscopia y calibración de ecuaciones NIRSf.....	60
3.2.4	Análisis estadístico	62
3.3	Resultados y discusión.....	61
3.3.1	Concentración de marcadores en muestras forrajes y heces.....	61
3.3.2	Consumo voluntario y digestibilidad de materia seca y materia orgánica por método de marcadores	64
3.3.3	Calibración de ecuaciones para consumo voluntario y digestibilidad por método de marcadores	66
4	Capítulo 4. Aplicación de ecuaciones NIRSf para predicción de digestibilidad y consumo de ovinos en pastoreo.....	71
4.1	Introducción	71
4.2	Materiales y métodos	72
4.2.1	Obtención de muestras.....	72
4.2.2	Procesamiento de muestras	73
4.2.3	Estimación de consumo voluntario y digestibilidad por método de marcadores en condiciones de pastoreo.....	73
4.2.5	Predicción de digestibilidad del forraje y del consumo voluntario usando ecuaciones NIRSf	74
4.3	Resultados y discusión.....	74
4.3.1	Consumo voluntario y digestibilidad de materia orgánica por método de marcadores en ovinos en pastoreo	74
5	Discusión general y conclusiones.....	78
5.1	Discusión general.....	78
5.1.1	Comparación de la estimación de digestibilidad y consumo voluntario por diferentes métodos en confinamiento.....	78
5.2	Conclusiones	79
5.3	Recomendaciones	80
6	Bibliografía	81

Lista de figuras

Figura 2-1. (A) Relación de la DMS con el contenido de FDN de los regímenes alimenticios. (B) Relación del CVMS con el contenido de almidón total de los regímenes alimenticios evaluados.443

Figura 2-2. (A) Digestibilidad de la materia orgánica y (B) consumo de la materia orgánica de diferentes regímenes alimenticios suministrados a ovinos bajo condiciones de confinamiento por método gravimétrico.....44

Figura 2-3. (A) Espectros sin procesar. (B) Pretratamiento de primera derivada y (C) segunda derivada. (D) Distribución de los tres primeros componentes principales de las heces de ovinos alimentados con diferentes regímenes alimenticios: **1.** KKF; **2.** RGO; **3.** KKO+ANH; **4.** KKO+ALH; **5.** KKO+TLO; **6.** KKO+EM.....47

Figura 3-1. Esquema de adaptación y suministro de Cr_2O_3 durante cada periodo experimental en bioensayos con ovinos55

Lista de tablas

Tabla 1-1. Parámetros de calibración y validación de modelos de predicción para DMS y DMO usando NIRS fecal.....	28
Tabla 1-2. Revisión de literatura de calibración y validación de modelos de predicción CVMS y CVMO usando NIRS fecal.....	29
Tabla 2-1. Composición nutricional de los recursos forrajeros evaluados en los bioensayos realizados con ovinos en confinamiento.....	34
Tabla 2-2. Composición química de los regímenes alimenticios evaluados en los bioensayos realizados con ovinos en confinamiento.....	37
Tabla 2-3. Parámetros relacionados con el consumo voluntario y digestibilidad de diferentes regímenes alimenticios suministrados a ovinos bajo condiciones de confinamiento determinados por método gravimétrico.....	41
Tabla 2-4. Estadística descriptiva de los parámetros de digestibilidad y consumo de ovinos en confinamiento a partir de muestras fecales para el proceso de calibración de ecuaciones.....	47
Tabla 2-5. Estadísticas de las ecuaciones generadas para digestibilidad y consumo voluntario de materia seca y materia orgánica de ovinos en confinamiento.....	49
Tabla 3-1. Parámetros operativos generales ICP-OES para análisis de Cromo.....	58
Tabla 3-2. Promedio de fibra detergente neutro indigestible de forraje ofrecido, forraje residual y heces de ovinos.....	61
Tabla 3-3. Promedio de contenido de cromo, excreción fecal estimada por marcador externo, excreción fecal medida por CTH y tasa de recuperación del cromo en heces de ovinos.....	63
Tabla 3-4. Digestibilidad y consumo voluntario de la materia seca y materia orgánica de diferentes regímenes alimenticios suministrados a ovinos bajo condiciones de	

confinamiento estimados mediante el marcador interno FDNi y marcador externo oxido de cromo	65
Tabla 3-5. Estadística descriptiva de los parámetros de digestibilidad y consumo de ovinos en confinamiento estimados mediante el método de marcadores a partir de muestras fecales para el proceso de calibración de ecuaciones	67
Tabla 3-6. Estadísticas de las ecuaciones generadas para DMS, DMO, CVMS y CVMO estimados por el método de marcadores en ovinos en confinamiento	69
Tabla 4-1. Promedio de la digestibilidad y consumo voluntario de la materia seca y materia orgánica individual de ovinos bajo condiciones de pastoreo estimados mediante el marcador interno FDNi y marcador externo oxido de cromo	75
Tabla 4-2. Promedio de digestibilidad y consumo voluntario de materia seca y materia orgánica individual de ovinos bajo condiciones de pastoreo predichos mediante la ecuación NIRSf y sus valores de "H" Global	77
Tabla 5-1. Parámetros estadísticos de comparación de la tecnología NIRSf y marcadores con el método gravimétrico para la estimación de la digestibilidad y consumo voluntario de materia seca	79

Lista de abreviaturas

Abreviaturas

Abreviatura	Término
°C	Grados centígrados
CVMO	Consumo de materia orgánica
CVMS	Consumo de materia seca
CS	Carbohidratos solubles
DE	Desviación estándar
DMO	Digestibilidad de la materia orgánica
DMS	Digestibilidad de la materia seca
EE	Extracto etéreo
FDA	Fibra en detergente ácido
FDN	Fibra en detergente neutro
m ²	Metros cuadrados
MO	Materia orgánica
MPLS	Regresión por mínimos cuadrados parciales modificados
MS	Materia seca
msnm	Metros sobre el nivel del mar
N	Numero de muestras usadas
NIR	Espectroscopía del infrarrojo cercano
NIRSf	Espectroscopía del infrarrojo cercano aplicada a las heces

Abreviatura Término

nm	Nanómetros
PCA	Análisis de componentes principales
PLS	Términos empleados en la regresión
PV	Peso vivo
PV ^{0.75}	Peso metabólico
r ²	Coefficiente de determinación de la predicción
R ² c	Coefficiente de determinación de la calibración
R ² vc	Coefficiente de determinación de la validación cruzada
RPD	Desviación predictiva residual
SEC	Error estándar de la calibración
SECV	Error estándar de la validación cruzada
SEP	Error estándar de la predicción
SNV	Variación normal estándar

Introducción

En Colombia, el forraje representa el principal recurso alimenticio y el más económico para los rumiantes, donde el pastoreo es la principal práctica de alimentación (Correa et al., 2009), contando con un área de 35'709.158 ha para tal fin (Moreno et al., 2018). El consumo voluntario es un parámetro importante en los sistemas productivos con rumiantes, ya que permite expresar la capacidad productiva de los animales (Mayes & Dove, 2000). De ahí el creciente interés en evaluar diversos métodos que permitan cuantificar el consumo de forrajes principalmente bajo condiciones de pastoreo. Sin embargo, la medición de este parámetro es un proceso complejo, debido a que está afectado por múltiples factores, entre los que se pueden mencionar las características del forraje y su relación con la capacidad intestinal, así como los requerimientos del animal, la concentración de nutrientes y el ambiente, entre otros (Decruyenaere et al., 2015). De esta forma, la información individual de este parámetro puede ser beneficioso para hacer una formulación de dietas más precisa, sin embargo, en la práctica el consumo es difícil de medir debido a que los animales son generalmente alimentados en grupo.

Los métodos para medir el consumo voluntario pueden ser clasificados en directos o indirectos. Los métodos directos tienen en cuenta la diferencia en la cantidad de biomasa forrajera ofrecida y residual, mientras que los métodos indirectos más usados requieren medir, tanto la digestibilidad como la cantidad de heces excretadas. La digestibilidad puede ser determinada por método *in vitro* o por método de marcadores internos como la fibra no digerible (Lippke et al., 1989). Por otro lado, la excreción fecal puede ser medida mediante la recolección total de heces con arneses (Holechek et al., 1982) o el uso de marcadores externos como el óxido de cromo u dióxido de titanio (Bartiaux-Thill & Oger, 1986; Compere et al., 1992).

La aplicación de los métodos para medir el consumo en condiciones de pastoreo requiere de una logística compleja, costosa y con una gran demanda de tiempo por el intento de

controlar todos los factores que determinan su medida. Adicionalmente, el grado de selectividad de los animales y la heterogeneidad de la base forrajera se constituyen en un factor limitante, que condiciona la recolección de una muestra representativa del forraje consumido (Smit et al., 2005).

Una alternativa indirecta para estimar el consumo voluntario de rumiantes en pastoreo es el uso de la espectroscopía de reflectancia en el infrarrojo cercano aplicado a las heces (NIRS fecal o NIRSf). Este es un método físico que depende de la medición de la absorción de luz de la porción del espectro que corresponde a las longitudes de onda del infrarrojo cercano (408-2500 nm) y se basa en la premisa de que las heces al tener residuos que no se digieren de la dieta, contienen suficiente información espectral que proporciona información sobre las características del forraje consumido, así como sobre el estado fisiológico del animal (Andueza et al., 2017; Boval et al., 2010; Brogna et al., 2018; Coates & Dixon, 2011; Coleman et al., 1990; Decruyenaere et al., 2015; Landau et al., 2005; Li et al., 2007; Stuth et al., 1989). Algunos estudios han desarrollado modelos de predicción relacionando la información espectral de las heces y el consumo voluntario en rumiantes (Andueza et al., 2017; Coates & Dixon, 2011; Decruyenaere et al., 2015), demostrando que una vez se obtienen ecuaciones de calibración robustas, se puede predecir este parámetro, incluso en los casos en donde es difícil obtener muestras representativas del forraje consumido, constituyendo así en una tecnología precisa, no destructiva, rápida y no contaminante (Decruyenaere et al., 2015).

Este trabajo tiene como objetivo evaluar el grado de ajuste de ecuaciones NIRSf desarrolladas para estimar la digestibilidad del régimen alimenticio y el consumo voluntario en ovinos con datos provenientes de los métodos gravimétrico (diferencia entre forraje ofrecido y residual) y mediante el uso de marcadores (interno y externo).

Este documento está compuesto por cuatro capítulos. El primero comprende una revisión sobre los factores que influyen en el control del consumo por parte de los rumiantes y el potencial que tiene la tecnología NIRS fecal para la predicción de la digestibilidad y del consumo voluntario en sistemas de producción de rumiantes. El segundo capítulo muestra la información obtenida por el método gravimétrico y el posterior desarrollo de modelos predictivos NIRS fecal con los resultados de calibración y validación cruzada. El tercer

capítulo muestra los resultados de consumo y digestibilidad obtenidos por el método de marcadores, las estadísticas obtenidas en la calibración de ecuaciones NIRSF para la predicción de estos parámetros. El cuarto capítulo comprende los resultados obtenidos con la aplicación de las ecuaciones desarrolladas en ovinos bajo condiciones de pastoreo. Finalmente, se presenta una discusión general donde se compara la digestibilidad y el consumo estimado por los diferentes métodos incluida la predicción con las mejores ecuaciones seleccionadas, conclusiones y recomendaciones del trabajo.

1 Capítulo 1. Potencial de la tecnología NIRSf para la predicción del consumo y la digestibilidad en rumiantes.

1.1 Factores que afectan el consumo voluntario en rumiantes

El consumo voluntario implica un suministro de alimento ilimitado, de modo que la única restricción de consumo corresponde al máximo de capacidad del animal de acuerdo con su estado fisiológico y requerimientos nutricionales (Moore, 1994; Rhind et al., 2002). Esa capacidad del tracto gastrointestinal está dada por la distensión retículo-ruminal es considerado el factor más importante en la regulación del consumo, influenciado a su vez por la velocidad de paso y absorción de los nutrientes junto con la integración de varios estímulos o señales del sistema nervioso central y órganos periféricos (Rhind et al., 2002). Adicionalmente, la capacidad gastrointestinal puede ser afectada por características del forraje como el contenido de materia seca (Mejía Diaz et al., 2017), la edad de rebrote (Arthington & Brown, 2005; Baumont et al., 2000; Soto-Navarro et al., 2014) y la calidad nutricional (Parga et al., 2002), generando cambios en la tasa de consumo, la velocidad de paso y en el comportamiento de pastoreo (Gregorini et al., 2007).

Los cambios en las condiciones de las pasturas, la distribución de las plantas y el aspecto físico pueden tener efectos extremos sobre la selección de la dieta y subsecuentemente en el consumo del forraje (Galyean & Gunter, 2016). También, las características morfológicas, estructurales y organolépticas de la planta, así como la presencia de toxinas y metabolitos secundarios como taninos y terpenos son factores que impactan la selectividad, la digestibilidad y el comportamiento ingestivo estimulando, limitando o inhibiendo el consumo (Provenza et al., 2003).

En cuanto a los contenidos de metabolitos secundarios, el consumo se limita por las tasas de eliminación de los compuestos secundarios del organismo y una vez que se alcanzan los niveles suficientes, los animales limitan su consumo y reanudan su alimentación solo

después de que la concentración en el cuerpo disminuye como resultado de la desintoxicación y eliminación de estos (Foley et al., 1995; Pfister et al., 1997).

Otra teoría relacionada con el consumo voluntario indica que los animales comen para suministrar nutrientes necesarios a los tejidos para llevar a cabo los procesos fisiológicos de mantenimiento, crecimiento, producción de leche y trabajo, los cuales están asociados con el potencial de producción (Yearsley et al., 2001), el estado fisiológico, la raza, entre otros (Detmann et al., 2014; Kyriazakis, 2003; Peyraud et al., 1996; Van Wieren, 1996a) y que a su vez están relacionados con el contenido de nutrientes del forraje (Kyriazakis, 2003; Van Wieren, 1996b). En ese sentido, Peyraud et al. (1996) y Faverdin et al. (2007) demostraron que el consumo voluntario está positivamente relacionado con el tamaño corporal y el nivel de producción de vacas lecheras y, por consiguiente, con los requerimientos nutricionales de estas.

Así mismo, se ha demostrado que cuando el nivel de alimentación se incrementa se produce una disminución en la digestibilidad asociada principalmente a una mayor tasa de paso (Raymond et al., 1953, 1955). Sin embargo, cuando los rumiantes son alimentados *ad libitum* y a medida que se aumente la oportunidad de selección generalmente prefieren las porciones de mayor calidad de los recursos forrajeros como las hojas dejando como residual en mayor proporción los tallos, donde se espera que se aumenten los valores tanto de consumo voluntario como de digestibilidad (Blaxter et al., 1956). Así mismo, forrajes con bajas digestibilidades limitan el consumo voluntario debido al tránsito lento por el rumen y el tracto digestivo (Allen, 1996; Leng, 1990).

De acuerdo con Illius y Jessop, (1996) el consumo es considerado como un fenómeno que involucra la integración de muchas señales y refleja la flexibilidad del sistema biológico desarrollado para enfrentar la variabilidad de alimentos, la composición y el estado del animal. De esta forma, las características de las plantas, asociadas a la presencia de toxinas o metabolitos secundarios, el sabor o el olor, son factores importantes que afectan

la selección de la dieta y el comportamiento ingestivo de los rumiantes en pastoreo y por lo tanto en su nivel de consumo (Provenza et al., 2003).

Debido a que el consumo voluntario es un fenómeno afectado por diversos factores, el desarrollo de métodos y técnicas que permitan realizar mediciones de forma más práctica y precisa, representa una línea actual de investigación con mucho potencial (Akdağ & Ocak, 2019).

1.2 Metodologías para la medición del consumo voluntario

El uso de bovinos y ovinos es frecuente en los estudios de investigación para la determinación de digestibilidad y consumo voluntario de forrajes en rumiantes. Los ovinos permiten que los procesos de investigación sean más económicos que los bovinos, se requiera de menor espacio, se puedan usar un mayor número de animales y adicionalmente los datos obtenidos de los estudios realizados se usan frecuentemente para hacer inferencia a la nutrición de los bovinos (Ferrell et al., 1986; Lobley et al., 1992; Rihani et al., 1993).

Así mismo, el consumo voluntario determinado con animales en condiciones de confinamiento es considerado el método más preciso, ya que mide la capacidad de consumo directamente por diferencia entre el alimento ofrecido y el rechazado, cuando se alimenta en exceso (Galyean & Gunter, 2016). Sin embargo, este método no es aplicable en condiciones tropicales donde el pastoreo es la principal practica de alimentación, donde se consideran variables adicionales a la calidad del forraje (Correa, 2011).

En este sentido, para la estimación del consumo voluntario en pastoreo existen numerosas metodologías clasificadas en directas e indirectas, las cuales han sido ampliamente

estudiadas y valoradas en términos de sus ventajas y limitaciones en cuanto a precisión, medición, tiempo y costos (Decruyenaere et al., 2009).

1.2.1 Métodos directos

En los métodos directos se encuentra la medición del alimento ofrecido y rechazado en corrales o jaulas metabólicas individuales, donde el forraje fresco generalmente se suministra dos veces al día, pesando y descartando el forraje rechazado cada mañana, antes de la siguiente alimentación (Minson, 1990). El consumo también puede ser estimado por medio de las diferencias en el peso vivo del animal (pre y post pastoreo), teniendo restricciones en cuanto a los periodos de medición los cuales deben ser cortos, por ejemplo, 1 hora (Coates & Penning, 2000).

Otro método directo se basa en la premisa de que el conocimiento de los requerimientos nutricionales del animal es un buen reflejo del valor nutricional de la dieta consumida y es comúnmente usado para determinar el potencial de consumo de vacas de leche (Faverdin et al., 2007). La limitante de este método es la precisión en la determinación de los requerimientos reales del animal, particularmente en pasturas tropicales, donde intervienen otros factores como por ejemplo el desplazamiento del animal (Allison, 1985).

1.2.2 Métodos indirectos

Los métodos indirectos se basan en la estimación de la digestibilidad y la cantidad de heces excretadas. Para la estimación de la digestibilidad las técnicas se basan principalmente en marcadores internos (sustancias presentes de manera natural en el alimento que son indigeribles) como la lignina, alcanos, cenizas insolubles o fibra indigerible que son excretadas en las heces (Decruyenaere et al., 2015). Para los alcanos, el hecho de que los órganos y las especies vegetales tengan diferentes perfiles estos, es una fuente importante de error en la estimación del consumo (Côrtes et al., 2005). De

manera similar, si la digestibilidad se determina a partir de una muestra no representativa de la pastura, la estimación del consumo estaría sesgada.

La cantidad de heces se puede medir usando arneses dotados de bolsas colectoras, lo que requiere de la manipulación diaria del animal y existe el riesgo de pérdida de las heces lo que puede generar errores en su estimación (Adesogan et al., 2000). También se pueden estimar mediante el uso de los marcadores externos, de los cuales los más comunes son el óxido de cromo (Cr_2O_3), el óxido de titanio (TiO_2) o alcanos de cadena par dosificados (Acamovic et al., 1992; de Souza et al., 2014; Velásquez et al., 2018), sin embargo, la capacidad de predicción de las heces se limita por la precisión del método analítico para determinar el marcador en las heces en el laboratorio y su tasa de recuperación en las heces (de Souza et al., 2014).

El índice de nitrógeno fecal también es usado para evaluar la digestibilidad, pero la relación entre el nitrógeno fecal y la digestibilidad está estrechamente asociada con las características de la pastura, en términos de su composición botánica y digestibilidad (Holloway et al., 1981). Azevedo et al. (2014), usaron este método para la estimación del consumo de forraje en ovejas en pastoreo con Ryegrass italiano, quienes recomendaron utilizar ecuaciones separadas por etapa fenológica de la planta, con el fin de aplicar la ecuación correcta para estimar el consumo, lo que limita su aplicación. En resultados obtenidos por Peripolli et al. (2011) indicaron que la ecuación no lineal desarrollada con forrajes puede usarse con suficiente precisión para estimar la digestibilidad de MO del forraje consumido por ovejas.

Por otro lado, el método indirecto basado en el comportamiento animal mide el tiempo del pastoreo, número de bocados y el tamaño de bocado, el cual se puede ver afectado por la presencia del observador y dificultándose su medición en pasturas heterogéneas (Decruyenaere et al., 2009). Oudshoorn et al. (2013) calcularon el consumo de forraje utilizando regresiones basadas en el tiempo de pastoreo y la frecuencia de mordidas individual. Así mismo, los sistemas basados en sensores de presión y acelerómetros tipo triaxial muestran una precisión confiable en la detección de la conducta alimenticia y de

rumia (Rombach et al., 2018; Ruuska et al., 2016). Sin embargo, estos métodos suelen representar costos altos.

1.3 Fundamento de la tecnología NIRS fecal

El uso de la espectroscopía de reflectancia en el infrarrojo cercano aplicada a las heces o NIRS fecal (NIRSf), es una tecnología que ha demostrado tener potencial en la estimación de la digestibilidad *in vivo* y el consumo voluntario de forraje en rumiantes (Decruyenaere et al., 2015). Este método se caracteriza por tener un enfoque diferente al de la espectroscopia NIR, debido a que las lecturas espectrales se realizan en un material derivado (heces) y no directamente sobre el material de interés como es el forraje (Dixon & Coates, 2009). Las anteriores características revelan una gran capacidad de uso de este método en condiciones de pastoreo, donde los procesos de selectividad, capacidad de consumo, tiempos de masticación y rumia, entre otros, son difíciles de cuantificar, lo que implica que por medio de muestras fecales se proporciona un mejor indicador de las características del alimento consumido que el análisis directo de una muestra de forraje de forma individual (Magalhães et al., 2010).

A nivel general la tecnología NIRS es una técnica espectroscópica vibracional que cuantifica la absorción proveniente de la vibración, a una misma frecuencia específica, de los enlaces moleculares O-H, C-H y N-H, presentes en diversos componentes orgánicos (por ejemplo, forrajes y heces). Para que exista absorción de la luz incidente, la molécula debe experimentar un cambio en su momento bipolar como consecuencia de su vibración. En el infrarrojo cercano corresponde a sobretonos y combinaciones de las bandas fundamentales localizadas entre 480 y 2500 nm (Osborne et al., 1993; Shenk et al., 2001). La cantidad de radiación reflejada de la muestra es cuantificada como el logaritmo a la inversa de la reflectancia o $\log(1/R)$. La relación entre la absorbancia de la muestra y la concentración del analito medido sigue la Ley de Beer-Lambert de la óptica, que establece que la absorción de la luz es proporcional al número de moléculas absorbentes presentes en el recorrido por la radiación, influida por las propiedades físicas de la muestra

(Adesogan et al., 2000). Por lo tanto, cada grupo funcional absorbe luz de la región NIR a una frecuencia y longitud de onda específica y es representado espectralmente como picos de absorción, obteniéndose un espectro único y característico para cada sustancia o muestra sometida a la radiación (Davies & Grant, 1987).

Para llevar a cabo calibraciones adecuadas es de gran importancia realizar un muestreo que represente la composición del parámetro de interés (Shenk et al., 2001), así como controlar de los factores que puedan generar errores en la lectura espectral de las muestras como humedad, tamaño de partícula y temperatura (Cozzolino et al., 2002). Posteriormente las muestras son sometidas a irradiación con fotones en el infrarrojo cercano (Peguero, 2010) y los espectros obtenidos se relacionan con valores de composición química o biológica obtenida mediante análisis de referencia (Decruyenaere et al., 2015). Generalmente y dependiendo de la cantidad de lecturas espectrales se pueden obtener dos grupos de muestras, uno usado para la fase de calibración y otro para la fase de validación.

En la fase de calibración, se aplican técnicas matemáticas basadas en métodos lineales de ajuste. El procedimiento matemático por regresión de mínimos cuadrados parciales modificados (MPLS, por sus siglas en inglés) ha sido ampliamente usada para aplicaciones agroalimentarias y es considerado un método más preciso y estable que los algoritmos de regresión lineal de mínimos cuadrados parciales (PLS, por sus siglas en inglés) y regresión de componentes principales (PCA) (Shenk & Westerhaus, 1996). Se requiere fijar el número óptimo de factores o términos del modelo ajustado, usando conjuntamente la validación cruzada, que consiste en la división del set de calibración en subgrupos formando ecuaciones y validarlas con el resto de las muestras, con el fin de prevenir el sobreajuste del modelo (Shenk & Westrerhaus, 1991). Esto permite evaluar la calidad de la calibración por medio del error estándar de calibración (SEC), el coeficiente de determinación (R^2) en la calibración, el error estándar de validación cruzada (SECV) y el coeficiente de determinación de la validación cruzada (R^2_{vc}). Adicionalmente por medio de la desviación predictiva residual (RPD), calculada como la relación entre la desviación estándar de los datos originales y el SECV (Williams, 2001).

La fase de validación externa consiste en utilizar un conjunto de muestras independiente e incluir todos los factores de interferencia contemplados dentro la fase de calibración (Workman & Mark, 2015). En esta fase, la evaluación de la calidad predictiva de las ecuaciones se realiza con el coeficiente de determinación de la predicción (r^2) y el error estándar de predicción (SEP). Por cada parámetro a evaluar (nutriente o componente de la muestra) se selecciona la mejor ecuación NIRS en función de los valores más altos de r^2 y RPD junto con los valores más bajos de SEP. Para este propósito se consideran aceptables r^2 mayores que 0.8 y una relación RPD mayor a 3.0 (Williams, 2001). Para lograr una mayor robustez en el ajuste de los modelos de predicción por NIRSf se debe tener en cuenta el tamaño y la representatividad de las bases de datos de digestibilidad y consumo voluntario, buscando que sean tomadas bajo diferentes condiciones de manejo, tipos de recursos forrajeros, etapas de crecimiento, entre otros (Decruyenaere et al., 2015).

1.4 . Uso de NIRSf para la estimación de digestibilidad y consumo voluntario de forrajes por rumiantes

Las primeras aplicaciones conocidas con la tecnología NIRS fecal fueron desarrolladas por Norris et al. (1976), quienes estimaron parámetros *in vivo* como digestibilidad o consumo de forrajes. Mas adelante, Coleman et al. (1989) encontraron que la predicción NIRSf para la digestibilidad de la materia seca (DMS) y el consumo de bovinos tenían un R^2_{vc} de 0.54 y de 0.55 respectivamente, evidenciándose, en ese caso, dificultades para obtener buenas predicciones cuando los valores de referencia no son tan precisos. Posteriormente, Lyons et al. (1992) y Showers, (1997), describieron los componentes presentes en las heces y discutieron las posibles relaciones entre los espectros fecales y la dieta consumida por bovinos en pastoreo. Más recientemente, Dixon y Coates, (2009), reportaron varios estudios, donde lograron calibrar ecuaciones con éxito, usando animales alojados en jaulas, midiendo la cantidad exacta de forraje consumido y la producción de heces, indicando que esta opción es válida para el inicio en el desarrollo de modelos de calibración antes de su aplicación en condiciones de pastoreo.

La mayoría de los estudios de NIRSf han evaluado forrajes con DMS que oscilaba entre 40 y 80% (Andueza et al., 2017; Coates & Dixon, 2011; Decruyenaere et al., 2015; Dixon & Coates, 2005; Jancewicz et al., 2016; Mehtiö et al., 2016). Debido a que el material vegetal no digerido constituye una gran proporción en las heces y que el consumo voluntario está limitado principalmente por las características del forraje, parece probable que la información espectral de las heces hace parte de una contribución importante a las calibraciones NIRS fecal para la estimación del consumo voluntario de materia seca (CVMS) y de materia orgánica (CVMO) (Dixon & Coates, 2009).

En trabajos desarrollados para predecir la DMS y la digestibilidad de la materia orgánica (DMO) se han encontrado valores de R^2 de la fase de calibración entre 0.80 y 0.95 y el SECV en rango de 10.2 a 43 g/kg⁻¹MS y en la fase de validación externa los r^2 fueron más bajos entre 0.74 y 0.85, SEP entre 19 y 36 g/kg⁻¹MS, indicando la necesidad de ampliar las bibliotecas espectrales junto a sus valores de referencia con el objetivo de mejorar estos valores estadísticos. En términos generales se puede decir que estos resultados demostraron el potencial del NIRS fecal para la predicción de la DMS y DMO en diferentes especies de rumiantes (Tabla 1-1).

Tabla 1-1. Parámetros de calibración y validación de modelos de predicción para DMS y DMO usando NIRS fecal

Parámetro	Especie	N	Promedio	Calibración			Validación		RPD	Referencia
				R ² vc	SEC	SECV	r ²	SEP		
DMS (g kg ⁻¹)	Bovino	633	449	0.95	13	15.0	-	-	4.0	Coates, 2005
	Caprino	43	564	0.91	32	43.0	-	-	2.5	Glasser et al, 2008
	Bovino	105 2	565	0.90	19	19.0	0.83	19.0	2.5	Coates y Dixon, 2011
DMO (g kg ⁻¹)	Ovino	869	709	0.94	17	18.0	-	-	-	Decruyenaere et al, 2002
	Ovino	85	646	0.80	15	21.0	0.74	21.0	-	Li et al, 2007
	Ovino	953	709	0.92	17	18.0	-	-	3.8	Decruyenaere et al, 2009
	Ovino Bovino	951	710	0.92	20	20.0	-	28.0	-	Decruyenaere et al, 2015
	Bovino	283	885	0.94	8.0	10.2	0.80	36.0	-	Jancewicz et al, 2016
	Ovino	102 0	700	0.86	22	23.0	0.85	23.0	2.6	Andueza et al, 2017*
	Bovino	221	724	0.69	17	17.7	0.66	-	1.7	Mehtiö et al, 2016

*Calibraciones obtenidas mediante algoritmo LOCAL. DMS: Digestibilidad de la materia seca, DMO: Digestibilidad de la materia orgánica, N: Número de muestras, SEC: Error estándar de calibración, SECV: Error estándar de validación cruzada, R²vc: Coeficiente de determinación en la validación cruzada, RPD: Desviación predictiva residual, SEP: Error estándar de la predicción, r²: Coeficiente de determinación de la predicción.

Los estudios más completos del uso de NIRS fecal para la predicción del CVMS y el CVMO se han realizado en ovinos, caprinos y bovinos que han consumido forrajes de origen templado y tropical (Tabla 1-2), obteniendo valores de R²vc con rango de 0.61 a 0.98, SECV de 1.9 a 6.6 g/kg PV^{0.75} y valores estadísticos en la validación externa más bajos con r² entre 0.45 y 0.67, SEP entre 4.53 y 8.42 g/kg PV^{0.75}). La RPD en la mayoría de los estudios, muestran valores inferiores a 3.0, con rango de 1.1 a 2.5, con excepción del trabajo reportado por Decruyenaere et al. (2015) con RPD de 4.6. De esta forma se puede observar que los estudios con los valores más bajos de R² tanto en la calibración como en la validación externa con valores entre 0.45 y 0.77, coinciden con número de muestras menores a 87 (Boval et al., 2010), evidenciándose nuevamente, la necesidad de ampliar los tamaños muestrales y contar con suficiente variación espectral con el fin de aumentar

estos valores estadísticos y generar modelos predictivos más robustos (Decruyenaere et al., 2015).

Tabla 1-2. Revisión de literatura de calibración y validación de modelos de predicción CVMS y CVMO usando NIRS fecal

Parámetro	Especie	N	Promedio	Calibración			Validación		RPD	Referencia
				R ² vc	SEC	SECV	r ²	SEP		
CVMS (g/kg PV ^{0.75})	Ovino	306	51.0	0.97	3.7	4.0	-	-	-	Decruyenaere et al, 2002
	Bovino									
	Ovino	101	-	0.84	4.8	5.1	-	-	-	Decruyenaere et al, 2003
	1									
	Bovino	139	101.0	0.98	4.9	6.8	-	-	4.6	Decruyenaere et al, 2004
	Bovino	87	76.0	0.61	4.6	5.3	0.52	-	1.1	Boval et al, 2004
CVMO (g/kg PV ^{0.75})	Ovino	84	57.0	0.77	6.6	11.0	0.45	-	1.3	Fanchone et al, 2007
	Ovino	942	51.4	0.86	3.9	4.1	-	4.53	2.5	Decruyenaere et al, 2009
	Ovino	936	51.3	0.83	4.3	4.5	-	8.42	-	Decruyenaere et al, 2015
	Bovino									
	Ovino	101	67.7	0.65	6.6	6.7	0.67	7.98	1.4	Andueza et al, 2017*
	4									

*Calibraciones obtenidas mediante algoritmo LOCAL. CVMS: Consumo de materia seca, CVMO: Consumo de materia orgánica, N: Número de muestras, SEC: Error estándar de calibración, SECV: Error estándar de validación cruzada, R²vc: Coeficiente de determinación en la validación cruzada, RPD: Desviación predictiva residual, SEP: Error estándar de la predicción, r²: Coeficiente de determinación de la predicción.

El avance de la tecnología NIRSf ha demostrado que se pueden desarrollar calibraciones adecuadas, tanto para la estimación de la digestibilidad como para el consumo voluntario, evidenciando la necesidad de continuar con investigaciones en condiciones tropicales, con el fin de lograr a futuro modelos predictivos que permitan desarrollar una herramienta de apoyo en la toma de decisiones aplicada en la alimentación animal, especialmente, en sistemas de pastoreo.

2 Capítulo 2: Ecuaciones NIRSf para la estimación del consumo voluntario y digestibilidad de la materia orgánica en ovinos en confinamiento por método gravimétrico

2.1. Introducción

El desarrollo de sistemas de alimentación para rumiantes requiere, entre otras cosas, el reconocimiento de las características químicas y nutricionales de los recursos alimenticios utilizados en la dieta, los requerimientos de los animales según su fase de producción o estado fisiológico y la determinación del consumo voluntario, como componente que relaciona la fuente de nutrientes y el individuo y permite potencializar el desempeño productivo del animal (Romney & Gill, 2009). Por esta razón, la estimación del consumo voluntario en rumiantes es un parámetro importante para la competitividad en estos sistemas de producción. Sin embargo, la medición de este parámetro es un proceso complejo debido al carácter multifactorial que gobierna su expresión y depende en gran medida de las características del forraje, de la capacidad del tracto gastrointestinal, de los requerimientos del animal, de la concentración de nutrientes y del ambiente, entre otros.

En el mundo se han desarrollado metodologías para la estimación tanto de la digestibilidad de la dieta como del consumo, que han sido ampliamente estudiadas y valoradas en términos de sus ventajas y limitaciones (Decruyenaere et al., 2009). El método gravimétrico, que tiene en cuenta la oferta y el rechazo de alimento en condiciones controladas o de confinamiento es considerado el método más preciso para medir el consumo voluntario y la digestibilidad de la dieta (Galyean & Gunter, 2016). Sin embargo, este método no considera variables como la selectividad del animal y el efecto de las condiciones ambientales, aspectos importantes en sistemas pastoriles tropicales lo que limita su aplicabilidad (Correa, 2011).

Gran parte de los trabajos realizados para desarrollo de calibraciones tendientes a evaluar el potencial de la tecnología NIRSf para la estimación de la digestibilidad y consumo voluntario se han desarrollado en ovinos estimados por el método gravimétrico (Decruyenaere et al., 2009a; Fanchone et al., 2007). Esto ha permitido que se logre continuar con el robustecimiento de los modelos predictivos posteriormente en otros tipos de sistemas productivos y en diversas condiciones (Andueza et al., 2017; Castañeda-Serrano et al., 2018; Decruyenaere et al., 2004, 2009, 2015; Fanchone et al., 2007; Landau et al., 2006; Núñez-Sánchez et al., 2016; Peripolli et al., 2011; Pulina et al., 2013).

El objetivo de este estudio es la evaluación de una metodología que permita el desarrollo de calibraciones NIRSf para consumo y digestibilidad de la materia seca y orgánica en ovinos, por medio del ajuste de espectros fecales obtenidos del consumo de regímenes alimenticios contrastantes por el método gravimétrico en ovinos en confinamiento.

2.2. Materiales y métodos

2.2.1. Obtención de muestras

El trabajo se llevó a cabo en la Unidad de bioensayos de nutrición animal de la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Agrosavia), en el Centro de investigación Tibaitata, localizado en la vereda San José del municipio de Mosquera (Cundinamarca), a 2550 msnm, con coordenadas 4°41'44.0"N 74°12'19.9"O y con una temperatura entre 12 y 14°C.

Los procedimientos con los animales descritos en este trabajo fueron aprobados por el comité de bioética de la Universidad Nacional de Colombia sede Bogotá en Acta 06 de 2020 con registro CB-FMVZ-UN-012-2020 y el comité Ad Hoc de Agrosavia bajo el registro en el formato FUA-027-2019.

Se realizaron seis bioensayos con ovinos para determinar el consumo voluntario y la digestibilidad de los regímenes alimenticios (uno para cada régimen alimenticio). Se usaron cinco ovinos machos de la raza Romney Marsh mayores de un año, con diferentes edades y con un peso vivo promedio de 58.3 ± 11.0 kg para estos seis bioensayos. Los animales fueron alojados en corrales individuales de 6 m² con piso de concreto, dotados con comedero y bebedero de canal. Los animales se pesaron en una báscula digital portátil al inicio y al final de cada periodo experimental, el cual constó de un total de 16 días, donde los 10 primeros días correspondieron al periodo de adaptación (al confinamiento, la dieta, los arneses y al marcador externo) y los últimos 6 días, al periodo de medición del consumo voluntario y a la recolección de muestras (forraje ofrecido, forraje residual y heces), siguiendo la metodología de Minson (1990).

En los bioensayos se usaron siete recursos forrajeros comúnmente usados en los sistemas de alimentación de rumiantes en el trópico alto colombiano, como fueron: Kikuyo (*Cenchrus*

clandestinus) de 77 días de rebrote ofrecido en fresco y oreado, Ryegrass perenne (*Lolium perenne*) de 77 días de rebrote oreado, heno de Angleton (*Dichanthium aristatum*) adquirido comercialmente, heno de Alfalfa (*Medicago sativa*) adquirido comercialmente, Tilo (*Sambucus peruviana*) de 90 días de poda oreado y ensilaje de Maíz (*Zea mays*) con grano, adquirido comercialmente.

Las muestras de forraje fueron analizadas por medio de ecuaciones NIRS para predicción de composición nutricional de forrajes de Colombia generadas por Ariza-Nieto et al., (2018) para el contenido de materia orgánica, proteína cruda, fibra en detergente neutro (FDN), fibra en detergente ácido (FDA), lignina, cenizas, almidón total, carbohidratos solubles. La composición química de cada uno de los recursos forrajeros se muestra en la tabla 2-1.

Tabla 2-1. Composición nutricional de los recursos forrajeros usados para bioensayos realizados con ovinos en confinamiento.

	Kikuyo fresco <i>(Cenchrus clandestinus)</i>	Kikuyo oreado <i>(Cenchrus clandestinus)</i>	Ryegrass oreado <i>(Lolium perenne)</i>	Angleton heno <i>(Dichanthium aristatum)</i>	Alfalfa heno <i>(Medicago sativa)</i>	Tilo oreado <i>(Sambucus peruviana)</i>	Maíz ensilaje <i>(Zea mays)</i>
Materia seca (%)	14.3	68.0	30.9	88.1	81.7	51.5	29.6
Materia orgánica (%) ¹	83.5	82.6	81.4	84.9	84.4	81.6	83.3
Proteína cruda (% MS)	16.2	16.0	11.8	5.0	17.6	30.4	10.1
Ceniza (% MS)	10.2	11.1	11.8	10.8	8.7	12.5	7.6
Extracto etéreo (% MS)	1.5	1.7	2.8	2.2	1.4	2.7	1.9
FDN (% MS)	60.5	59.4	57.5	71.6	54.1	36.8	51.8
FDA (% MS)	33.5	32.7	32.0	42.5	28.7	24.7	25.4
Lignina (% MS)	7.4	7.0	6.5	9.7	6.0	5.0	5.1
Almidón (% MS)	1.5	2.9	3.8	0.8	4.3	5.4	14.0
Carbohidratos solubles (%)	2.7	2.4	4.0	1.2	1.9	3.4	3.3

FDN: Fibra en detergente neutro; FDA: Fibra en detergente ácido.* equivalente ácido tánico. Materia orgánica (%)= % Materia seca - % cenizas

Los recursos forrajeros fueron ofrecidos a voluntad en seis regímenes alimenticios contrastantes en su valor nutricional así: 1) Kikuyo fresco (KKF), 2) Ryegrass oreado (RGO), 3) Kikuyo oreado + Angleton heno (KKO+ANH), 4) Kikuyo oreado + Alfalfa heno (KKO+ALH), 5) Kikuyo oreado + Tilo oreado (KKO+TLO) y 6) Kikuyo oreado + Maíz ensilaje (KKO+EM). El forraje oreado fue cortado y secado previamente bajo condiciones cubiertas durante aproximadamente 72 horas, mientras que el forraje fresco se suministró luego de ser cosechado.

Cada forraje se ofreció comederos individuales dos veces al día (20 % adicional del consumo esperado) para que los animales tuvieran acceso a voluntad; al final de cada día se pesó el forraje que no fue consumido (residual) para calcular el consumo de cada forraje y así determinar la proporción de estos en los regímenes alimenticios. Adicionalmente, a cada animal se le suministró 10 gramos diarios de sal mineralizada (calcio 12 %, fosforo 5 %, cloruro de sodio 26,2 %, azufre 7 %, magnesio 1 %, cobre 0,05 %, zinc 1 %, yodo 0,02 %, cobalto 0,0023 %, selenio 0,010 %, cromo 0,002 %, biotina 0,02 µg, humedad 5 %) y agua fresca a voluntad.

2.2.2. Procesamiento de muestras

Las muestras recolectadas de forraje ofrecido, forraje residual y heces fueron secadas en una estufa con aire forzado a 65°C por 48 horas o hasta obtener peso constante de acuerdo con la metodología de la AOAC 2001.12. Las muestras fueron molidas y tamizadas en un molino de martillo con criba de 1 mm (Retsch Modelo SM100); conservadas en frascos herméticos a temperatura ambiente para su posterior análisis químico y espectral en la unidad de laboratorios de Agrosavia, CI Tibaitata.

2.2.3. Estimación de consumo voluntario y digestibilidad por método gravimétrico

La medición del consumo de alimento en condiciones controladas se realizó por el método gravimétrico, el cual se basa en el pesaje de los forrajes ofrecidos y residuales usados en cada régimen alimenticio en intervalos de 24 horas por cada animal y se calculó mediante la siguiente fórmula de acuerdo con lo reportado por Forbes (2007).

$$\text{Consumo voluntario (kg MS o MO/d)} = \text{MS o MO ofrecida (kg)} - \text{MS o MO residual (kg)}$$

(Ecuación 2-1)

De esta forma también se expresó el consumo voluntario tanto de MS como de MO en términos del porcentaje del peso vivo del animal y ajustado por el peso metabólico.

Para obtener los coeficientes de digestibilidad aparente *in vivo*, se usó la siguiente fórmula, en la cual se relacionó la cantidad de alimento consumido, la cantidad de heces excretadas y el contenido del nutriente que se evaluó, tanto en heces como en el alimento de acuerdo con lo reportado por Church et al., (2002) así:

$$\text{Digestibilidad (\%)} = \frac{\text{MS o MO consumida (kg)} - \text{Excreción fecal (kg MS o MO)}}{\text{MS o MO consumida (kg)}} * 100$$

(Ecuación 2-2)

2.2.4. Análisis de espectroscopia

Las 170 muestras de heces (5 animales, 34 muestras por animal; dos bioensayos con 5 días de medición y cuatro con 6 días de medición), 290 muestras de forraje ofrecido y 290 de forraje residual (5 animales, 58 muestras por animal; dos bioensayos con un forraje, 5 días de medición y cuatro con dos forrajes, 6 días de medición), previamente secas y molidas obtenidas de los bioensayos con ovinos fueron leídas espectralmente en un equipo marca FOSS modelo DS2500, en el modo de reflectancia difusa y en el segmento espectral comprendido entre los 400 a 2500 nm con resolución espectral de 0,5 nm. Las muestras se depositaron en una copa circular de 60 mm de diámetro, se registraron siete espectros por cada una de las muestras, realizando un promedio de 32 exploraciones sucesivas por medio del software ISIScan Nova versión 4.8.0.1, en el cual se almacenaron las absorbancias expresadas como resultado del log (1/R), donde R corresponde a la energía de la reflectancia.

2.2.5. Calibración de ecuaciones NIRSF

El análisis quimiométrico se hizo usando del software WinISI 4.10.0 (Foss and Infracsoft International, USA). Para cada bioensayo se hizo un promedio por animal, obteniendo un total de 30 espectros fecales de los ovinos, a las cuales se les relacionó los datos de referencia determinados por el método gravimétrico como son la digestibilidad de la materia seca (DMS), digestibilidad de la materia orgánica (DMO) y el consumo de materia seca (CVMS), consumo de materia orgánica (CVMO) expresado como kg/d, % PV y en g/kg PV^{0.75}.

Las lecturas espectrales de las muestras fueron clasificadas inicialmente por medio del algoritmo CENTER, que proporciona información acerca de la distancia de Mahalanobis (H), entre cada espectro de las muestras respecto al promedio espectral de todas las

muestras, con el fin de identificar espectros atípicos con valores superiores a 3.0. Las calibraciones fueron generadas a partir del método de regresión de mínimos cuadrados parciales modificados (MPLS) para obtener ecuaciones para los parámetros estudiados mediante el enfoque GLOBAL de acuerdo con el procedimiento reportado por Shenk y Westrerhaus, (1991).

Posteriormente, se aplicó un proceso de validación cruzada para seleccionar el número óptimo de factores y evitar el sobreajuste del modelo, la cual se realizó dividiendo el grupo de muestras para la calibración en ocho grupos, donde se desarrolla ecuaciones con cada uno de los grupos y cada ecuación generada es aplicada sobre las demás muestras (Williams et al., 2017). Se aplicó el pretratamiento de los datos espectrales para corregir la radiación dispersa por medio de los métodos de variación normal y de tendencia SNV y detrend, (*standard normal variate and detrending*) (Arana et al., 2005).

Para la calibración de cada parámetro se consideraron los dos segmentos espectrales Visible+NIR (408-2492.2 nm) y NIR (1108-2492.2 nm). Para cada segmento se aplicó cuatro tratamientos matemáticos (1.4.4.1, 1.8.8.1, 2.4.4.1, 2.8.8.1), los cuales consistieron en una notación de cuatro dígitos, donde el primer dígito es el orden de la derivada, el segundo dígito es el segmento de derivación y el tercer y cuarto dígito corresponden al suavizado de la señal (Ozaki et al., 2007), realizando un pase de eliminación de valores atípicos durante el proceso de calibración .

El rendimiento de los modelos predictivos generados fue evaluado por medio de los siguientes parámetros estadísticos en la fase de calibración de acuerdo con Williams, (2001):

- Coeficiente de determinación en la calibración (R^2).
- Coeficiente de determinación en la validación cruzada (R^2_{vc}).
- Error estándar de validación cruzada (SECV)
- Error estándar de calibración (SEC)

Adicionalmente se calculó la desviación predictiva residual (RPD), la cual relaciona la desviación estándar de los datos de referencia originales y el SECV. Teniendo en cuenta los parámetros anteriores, se seleccionaron las mejores ecuaciones para la predicción de la DMO y el CVMO a partir de los valores más altos de R^2_{vc} y RPD junto con los valores más bajos de SECV según Williams, (2001).

2.2.6. Análisis estadístico

Las variables DMS, DMO, CVMS y CVMO fueron sometidas a un análisis de varianza bajo un diseño completo al azar, con el régimen de alimentación como factor de tratamiento, utilizando el procedimiento GLM de SAS versión 9.4 (SAS Inst., Inc., Cary, NC) y la separación de medias se realizó con la prueba de Tukey ($P < 0,05$).

Se realizó un análisis de correlación de Pearson entre las variables de digestibilidad y consumo obtenidas por el método gravimétrico y el valor nutricional de los regímenes alimenticios utilizando el procedimiento CORR de SAS versión 9.4 (SAS Inst., Inc., Cary, NC). Adicionalmente, a las asociaciones que mostraron coeficientes de correlación significativos ($P < 0,05$), se les realizó un análisis de regresión lineal usando el procedimiento REG de SAS versión 9.4 (SAS Inst., Inc., Cary, NC).

2.3. Resultados y discusión

2.3.1. Consumo voluntario y digestibilidad por método gravimétrico

La composición nutricional de los regímenes alimenticios se presenta en la tabla 2-2. La MS osciló entre 14.3 % y 79.6 % debido a los métodos de conservación de los forrajes

ofrecidos (fresco, oreado, henificado y ensilado). El mayor contenido de proteína con 21.1% se presentó en KKO+TLO; seguido por los regímenes alimenticios KKO+ALH y KKF con valores promedio 16.2 % y 17.2 %, respectivamente, mientras que regímenes con los niveles de proteína por debajo de 12.7 % fueron RGO, KKO+ANH y KKO+EM. La FDN varió entre 51.3 % y 63.0 %, siendo el más alto KKO+ANH y el menor KKO+TLO. Además, se observa que en los regímenes alimenticios que tenía dos opciones forrajeras disponibles para el animal, la proporción de consumo voluntario de los forrajes fue diferente, es así como, en los regímenes alimenticios KKO+ALH y KKO+EM los animales consumieron menos KKO con 40 % y 39 %, respectivamente; mientras que en los regímenes KKO+ANH y KKO+TLO consumieron más KKO con 75 % y 70 %, respectivamente.

Tabla 2-2. Cálculo de la proporción y composición química de los regímenes alimenticios consumidos por ovinos en confinamiento.

	KKF	RGO	KKO+ANH	KKO+ALH	KKO+TLO	KKO+EM	Valor-P
+Consumo forraje A (%)	100	100	74,42	40,46	70,51	38,88	
+Consumo forraje B (%)	0	0	25,58	59,54	29,59	61,12	
Materia seca (% MS)	14,31 ^e	30,86 ^d	79,59 ^a	77,05 ^a	60,95 ^b	42,54 ^c	<0.001
Proteína cruda (% MS)	16,21 ^b	11,76 ^c	12,73 ^c	17,15 ^b	21,23 ^a	11,98 ^c	<0.001
Ceniza (% MS)	10,18 ^b	11,84 ^a	11,63 ^a	9,42 ^c	11,56 ^a	8,87 ^d	<0.001
Extracto etéreo (% MS)	1,51 ^d	2,84 ^a	2,10 ^b	1,47 ^d	2,01 ^b	1,82 ^c	<0.001
FDN (% MS)	60,55 ^b	57,46 ^c	63,02 ^a	56,36 ^{cd}	51,30 ^e	55,12 ^d	<0.001
FDA (% MS)	33,54 ^b	31,96 ^c	36,65 ^a	29,74 ^d	28,69 ^d	28,89 ^d	<0.001
Lignina (% MS)	7,36 ^b	6,51 ^c	7,79 ^a	6,32 ^{cd}	6,18 ^{cd}	5,96 ^d	<0.001
Almidón (% MS)	1,50 ^d	3,77 ^b	2,55 ^c	3,23 ^{bc}	3,77 ^b	9,85 ^a	<0.001
Carbohidratos solubles (% MS)	2,73 ^c	4,02 ^a	1,99 ^d	1,76 ^d	2,69 ^c	3,39 ^b	<0.001

KKF: Kikuyo fresco; RGO: Ryegrass oreado; KKO+ANH: Kikuyo oreado + Angleton heno; KKO+ALH: Kikuyo oreado + Alfalfa heno; KKO+TLO: Kikuyo oreado + Tilo oreado; KKO+EM: Kikuyo oreado + Maíz ensilaje. FDN: Fibra en detergente neutro; FDA: Fibra en detergente ácido. *Proporción calculada por diferencia porcentual de los pesos ofrecidos y residuales de los forrajes. Letras diferentes en las filas indican diferencias significativas ($\alpha= 0,05$; Tukey).

Los valores promedio de forraje ofrecido, forraje residual, digestibilidad y consumo voluntario, expresados en términos de materia seca (MS) y materia orgánica (MO) de ovinos en confinamiento con diferentes regímenes alimenticios se presentan en la tabla 2-3. Los valores de DMS a nivel general fueron más bajos en un 4.1 % que los valores expresados en MO. El régimen alimenticio de KKO+TLO tuvo valores similares ($P>0.05$) de DMS y DMO con KKO+EM y KKO+ALH y RGO, siendo estas las más altas ($P<0.05$) respecto a los demás regímenes evaluados. La digestibilidad más baja ($P<0.05$) fue para el régimen de KKO+ANH. El promedio de DMS fue de 51.5% para este estudio, el cual fue más bajo al reportado por Cabral et al. (2017) de 56.1% por el método de colecta total de heces en ovinos de engorde confinados.

Tabla 2-3. Consumo voluntario y digestibilidad de regímenes alimenticios suministrados a ovinos bajo condiciones de confinamiento determinados por método gravimétrico.

Régimen alimenticio	DMS (%)	DMO (%)	CVMS (kg d)	CVMO (kg /d)	CVMS (% PV)	CVMO (% PV)	CVMS (g/kg PV ^{0.75})	CVMO (g/kg PV ^{0.75})
KKF	51.01 ^b ±4.2	51.9 ^b ±4.2	0.79 ^c ±0.1	0.66 ^c ±0.1	1.37 ^c ±0.3	1.14 ^c ±0.2	37.54 ^c ±5.9	31.3 ^c ±4.9
RGO	55.19 ^{ab} ±2.5	56.4 ^{ab} ±2.8	1.32 ^{ab} ±0.2	1.07 ^b ±0.1	2.57 ^{ab} ±0.2	2.1 ^{ab} ±0.1	68.79 ^b ±5.5	55.9 ^b ±4.3
KKO+ANH	36.32 ^c ±1.9	41.8 ^c ±1.9	1.27 ^b ±0.1	1.04 ^b ±0.1	2.09 ^b ±0.4	1.72 ^b ±0.3	58.35 ^b ±7.4	47.9 ^b ±6.7
KKO+ALH	52.44 ^{ab} ±5.2	54.4 ^{ab} ±4.4	1.33 ^{ab} ±0.1	1.11 ^{ab} ±0.1	2.26 ^b ±0.3	1.89 ^b ±0.2	62.39 ^b ±6.8	52.4 ^b ±5.4
KKO+TLO	58.81 ^a ±3.2	60.7 ^a ±2.8	1.41 ^{ab} ±0.2	1.16 ^{ab} ±0.2	2.52 ^{ab} ±0.3	2.1 ^{ab} ±0.2	68.28 ^b ±5.6	56.6 ^b ±3.6
KKO+EM	55.28 ^{ab} ±2.9	56.9 ^{ab} ±2.9	1.70 ^a ±0.3	1.41 ^a ±0.3	3.03 ^a ±0.3	2.5 ^a ±0.3	82.58 ^a ±7.5	68.6 ^a ±6.1
Valor P	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

DMS: Digestibilidad de la materia seca, DMO: Digestibilidad de la materia orgánica, CVMS: Consumo voluntario de materia seca, CVMO: Consumo voluntario de materia orgánica. KKF: Kikuyo fresco; RGO: Ryegrass oreado; KKO+ANH: Kikuyo oreado + Angleton heno; KKO+ALH: Kikuyo oreado + Alfalfa heno; KKO+TLO: Kikuyo oreado + Tilo oreado; KKO+EM: Kikuyo oreado + Maíz ensilaje.

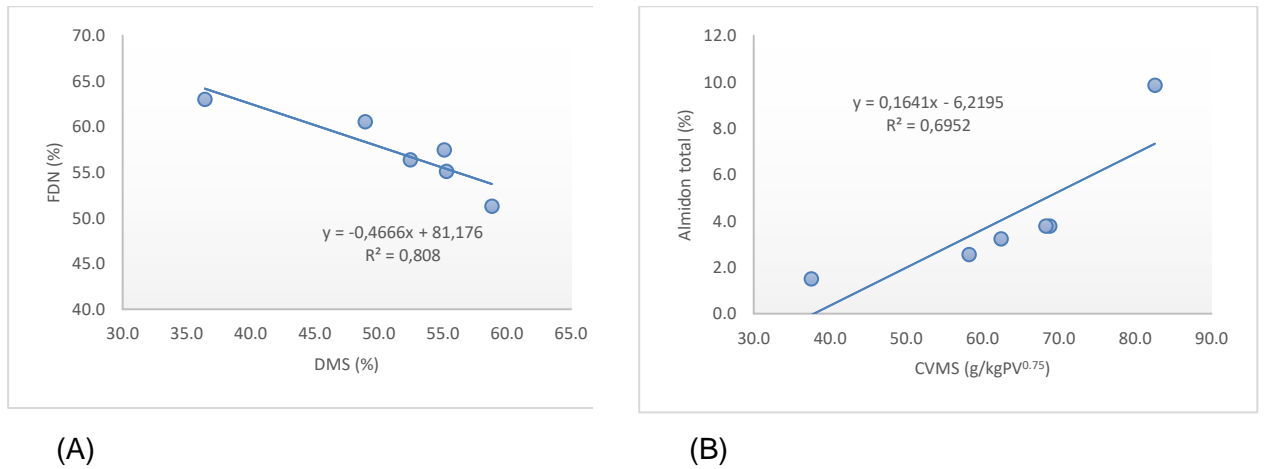
El consumo voluntario expresado como la cantidad de MS o MO consumida al día fue mayor cuando los ovinos fueron alimentados con KKO+EM (1.70 kg MS/d; 1.41 kg MO/d)

que a su vez fue similar ($P>0.05$) con KKO+ALH (1.33 kg MS/d; 1.11 kg MO/d) y KKO+TLO (1.41 kg MS/d; 1.16 kg MO/d), mientras que el consumo más bajo ($P<0.05$) fue para KKF (0.79 kg MS/d; 0.66 kg MO/d).

El CVMS y CVMO expresado en porcentaje del peso vivo del animal oscilo entre 1.37 y 3.03 % para CVMS y entre 1.14 y 2.51 % para CVMO, siendo más alto para los ovinos alimentados con el régimen alimenticio de KKO+EM y el más bajo con el régimen de KKF ($P<0.05$). Al ajustar el consumo por el peso metabólico se conservó la misma tendencia con las anteriores formas de expresarlo, siendo más alto ($P<0.05$) para KKO+EM (68.6 g/kg $PV^{0.75}$), con valores intermedios y similares ($P>0.05$) entre los regímenes alimenticios de KKO+ANH, KKO+ALH, KKO+TLO y RGO, mientras que el consumo más bajo fue bajo ($P<0.05$) el régimen KKF. El CVMS en promedio obtenido en este estudio fue de 62.7 g/kg $PV^{0.75}$, el cual es superior al reportado por Decruyenaere et al. (2015), con datos obtenidos de diferentes ensayos de consumo y digestibilidad con ovinos con un promedio de 51.0 g/kg $PV^{0.75}$.

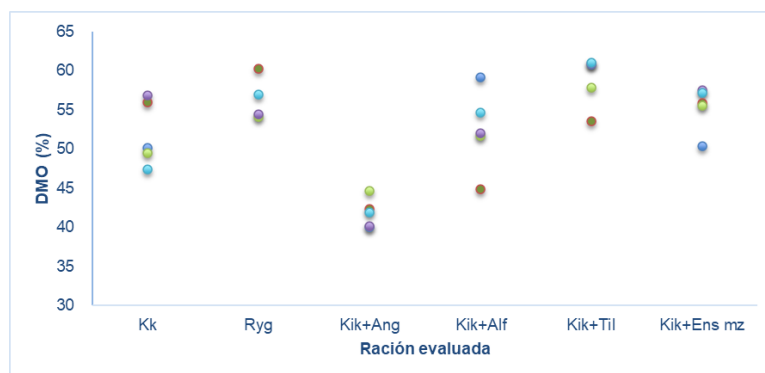
Cuando se relacionaron los valores promedio de digestibilidad de la materia seca, con los diferentes componentes químicos del régimen alimenticio, se encontró una mayor asociación con el FDN de los regímenes alimenticios ($r=-0.89$; $P=0.014$), de la regresión lineal, se observa que por cada unidad porcentual de aumento en el FDN en el régimen la DMS disminuyó en 0.46 %. La cantidad de MS consumida por día mostró una asociación positiva con el contenido de almidón ($r=0.83$; $P=0.040$), indicando que, por cada unidad porcentual de aumento de almidón en el régimen alimenticio el CVMS aumentó en 0.16 g/kg $PV^{0.75}$.

Figura 2-1. (A) Relación de la DMS con el contenido de FDN de los regímenes alimenticios. (B) Relación del CVMS con el contenido de almidón total de los regímenes alimenticios evaluados.

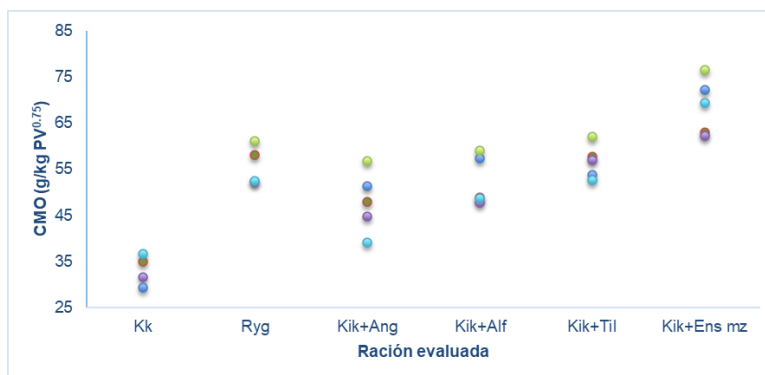


Los valores promedio por animal de DMO y CVMO (g/kg PV^{0.75}) determinados por el método gravimétrico para cada uno de los bioensayos se muestran en la figura 2-2. El rango observado en la DMO para cada uno de los regímenes alimenticios entre los diferentes individuos es similar, excepto para la dieta de KKF y la de KKO+ALH, donde se observa una mayor dispersión de los datos. De esta forma, se puede observar en la figura una alta variación individual en la respuesta a la DMO, ya que los individuos no guardan un orden de respuesta a través de los ensayos, lo anterior se podría relacionar con afectaciones en el comportamiento ingestivo concerniente con las características externas del alimento (Baumont et al., 2000), tales como la presentación en la que fue suministrado, la edad de corte o cosecha, entre otros.

Figura 2-2. (A) Digestibilidad de la materia orgánica y (B) consumo de la materia orgánica de diferentes regímenes alimenticios suministrados a ovinos bajo condiciones de confinamiento por método gravimétrico.



(A)



(B)

Se generaron diferentes niveles de consumo de acuerdo con el régimen alimenticio evaluado, así mismo, la variabilidad entre animales bajo el mismo régimen alimenticio fue a nivel general más amplia para el consumo respecto a la encontrada con la DMO. Esta información demuestra la importancia de obtener datos sobre digestibilidad y consumo de alimento individualmente y de esta forma llevar a cabo formulación de dietas en sistemas productivos por cada animal y así optimizar los sistemas de alimentación de rumiantes. Similar a lo encontrado para la DMO, la respuesta individual cambia de orden a través de los regímenes alimenticios, indicando variaciones individuales asociadas a factores

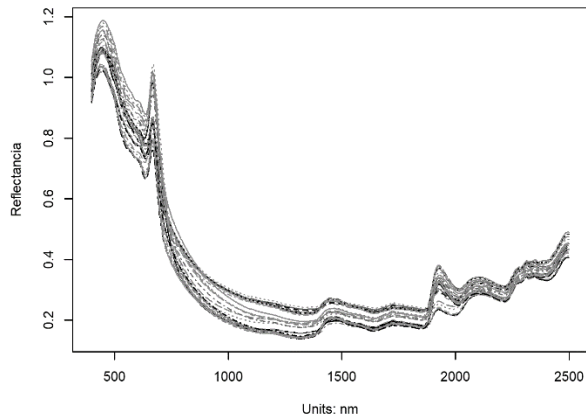
externos del alimento o a condiciones fisiológicas particulares durante el desarrollo de los ensayos.

2.3.2. Calibración de ecuaciones para consumo voluntario y digestibilidad por método gravimétrico

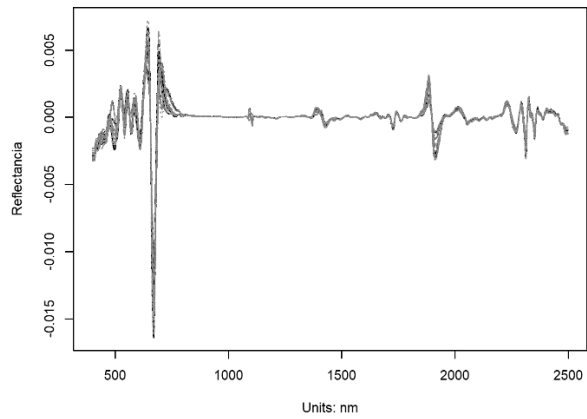
Características del espectro visible e infrarrojo cercano

El espectro de las heces medidas en las longitudes de onda entre 400 a 2500 nm, se muestra en la Figura 2-3A. La aplicación de los pretratamientos matemáticos fue necesaria para el análisis espectral para corregir los desplazamientos de la línea base, la dispersión de la luz y el solapamiento de las bandas se les aplicó pretratamientos matemáticos con la primera y segunda derivada donde la primera derivada elimina los desplazamientos de la línea base constantes y la segunda derivada elimina los desplazamientos que varían linealmente con la longitud de onda (Figura 2-3B y 2-3C).

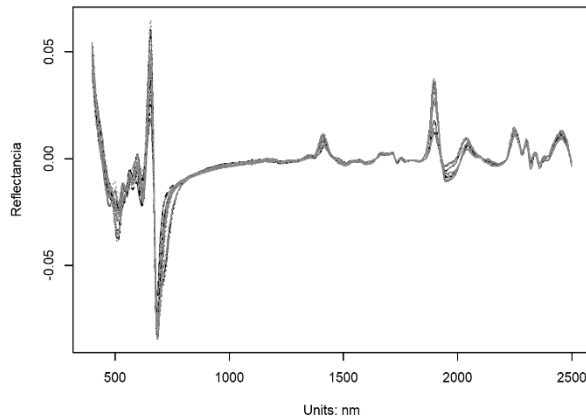
Figura 2-3. (A) Espectros sin procesar. (B) Pretratamiento de primera derivada y (C) segunda derivada. (D) Distribución de los tres primeros componentes principales de las heces de ovinos alimentados con diferentes regímenes alimenticios: 1. KKF; 2. RGO; 3. KKO+ANH; 4. KKO+ALH; 5. KKO+TLO; 6. KKO+EM.



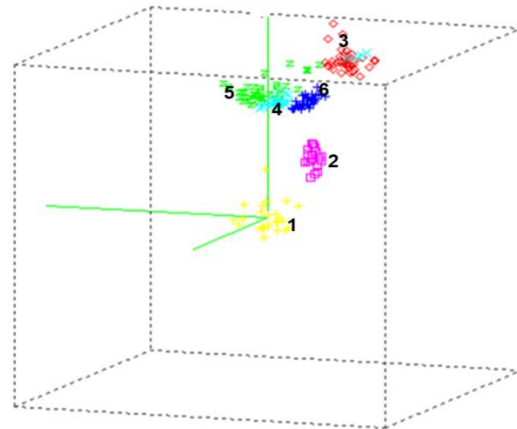
(A)



(C)



(B)



(D)

En el análisis de componentes principales (ACP), los tres primeros componentes explicaron el 95.69 % de la variación de la información espectral obtenida en las heces. A pesar de que este análisis no es una herramienta de clasificación, si nos mostró la tendencia de los datos cuando se visualizaron en la dimensión espacial. La figura 2-3D nos muestra que existen diferencias entre los grupos de espectros fecales de los ovinos alimentados con los diferentes regímenes alimenticios, indicando que KKF y RGO son espectralmente diferentes mientras que los regímenes alimenticios de KKO+ANH, KKO+ALH, KKO+TLO y KKO+EM fueron similares entre sí.

Calibración de ecuaciones NIRSF

La estadística descriptiva de las variables de DMS, DMO, CVMS y CVMO expresado en kg/d, % PV y en g/kg PV^{0.75} de ovinos en confinamiento para el grupo de muestras fecales usadas en el proceso de calibración se presenta en la tabla 2-4. El rango encontrado en este trabajo para la DMS fue de 34.6 a 61.3% para la DMO de 40.1 a 63.5%. Andueza et al. (2017), encontraron rangos de DMO para el set de calibración usando la tecnología NIRSF de 52 a 85±0.6 % para gramíneas y de 57 a 83±0.5 % para leguminosas. Así mismo, Decruyenaere et al. (2009), usaron dos bases de datos de experimentos realizados con ovinos para la calibración de ecuaciones para la predicción de DMO en bovinos y ovinos encontrando rangos entre 55 y 81 % en la base de datos CRA-W y de 59 y 77 % en la base de datos INRA, las cuales son superiores a las encontradas en este estudio. Por otro lado, Landau et al. (2004) en un estudio de digestibilidad y consumo realizado con cabras encontraron un rango de 41.3 a 80 % DMS.

Tabla 2-4. Estadística descriptiva de los parámetros de digestibilidad y consumo de ovinos en confinamiento a partir de muestras fecales para el proceso de calibración de ecuaciones.

Parámetro	Calibración				
	n*	Media	DE	Min	Max
DMS (%)	29	51.5	8.31	34.6	61.3
DMO (%)	29	53.6	6.84	40.1	63.5
CVMS (kg/d)	29	1.30	0.32	0.64	2.22
CVMO (kg/d)	29	1.07	0.27	0.54	1.85
CVMS (% PV)	29	2.29	0.59	1.02	3.49
CVMO (% PV)	29	1.94	0.49	0.97	2.89
CVMS (g/kg PV ^{0.75})	29	62.7	15.2	28.7	92.2
CVMO (g/kg PV ^{0.75})	29	52.0	12.6	24.1	76.4

*Perdida de una unidad experimental, DMS: Digestibilidad de materia seca, DMO: Digestibilidad de la materia orgánica, CVMS: Consumo de materia seca, CVMO: Consumo de la materia orgánica, PV: Peso vivo. PV^{0.75}: Peso metabólico, n: Número de muestras, DE: Desviación estándar, Min: Mínimo, Max: Máximo.

La cantidad de MS consumida por día varió entre 0.64 y 2.22 kg/d, siendo más amplio que el rango encontrado por Landau et al. (2004) en ovinos, el cual fue entre 0.55 y 1.90 kg/d. El rango para el CVMO fue de 0.54 a 1.85 kg/d y para el consumo expresado como el porcentaje del peso vivo fue entre 1.02 y 3.49 %. El CVMS ajustado por el peso metabólico osciló entre 28.7 y 92.2 g/kg $PV^{0.75}$ y para el CVMO de 24.1 a 76.4 g/kg $PV^{0.75}$. Andueza et al. (2017) en un trabajo con ovinos obtuvieron rangos de CVMO entre 34.7 a 94.9 g/kg $PV^{0.75}$ con gramíneas y entre 56.4 y 100.5 g/kg $PV^{0.75}$ con leguminosas, los cuales son más altos a los obtenidos en este trabajo. Por otro lado, en el estudio realizado con ovinos por Decruyenaere et al. (2009), los rangos para el CVMO fueron de 41.04 a 61.28 g/kg $PV^{0.75}$ para la base de datos CRA-W y de 51.31 a 74.48 g/kg $PV^{0.75}$ para la base de datos INRA, los cuales son más cercanos a los obtenidos en este estudio.

En la tabla 2-5, se muestra las estadísticas obtenidas para cada una de las variables evaluadas luego de ser sometidas a diferentes tratamientos matemáticos y usando los segmentos espectrales Vis+NIR y NIR. En el proceso de validación cruzada, las ecuaciones para la predicción de la DMS y DMO obtuvieron mejores resultados cuando se usó la primera derivada con el tratamiento matemático 1.4.4.1 y con el segmento Vis+NIR con SECV de 4.92 y 4.25%, R^2_{vc} de 0.62 y 0.6 y RPD de 1.65 y 1.61, respectivamente.

Tabla 2-5. Estadísticas de las ecuaciones generadas para digestibilidad y consumo voluntario de materia seca y materia orgánica de ovinos en confinamiento.

Variable	Tratamiento matemático	Segmento	PLS	N	DE	Calibración			Validación cruzada		
						SEC	R ²	RPD	SECV	R ² vc	RPD
DMS (%)	1.4.4.1	Vis+NIR	3	29	8.32	4.34	0.73	1.91	4.92	0.62	1.65*
		NIR	3	29	8.32	4.75	0.67	1.75	6.07	0.45	1.37
DMO (%)	1.4.4.1	Vis+NIR	2	29	6.84	3.49	0.74	1.96	4.25	0.60	1.61*
		NIR	4	29	6.84	3.68	0.71	1.86	4.63	0.52	1.48
CVMS (kg/d)	1.4.4.1	Vis+NIR	3	29	0.32	0.17	0.72	1.89	0.21	0.58	1.57*
		NIR	6	29	0.32	0.15	0.79	2.18	0.25	0.40	1.31
CVMO (kg/d)	1.4.4.1	Vis+NIR	3	29	0.27	0.14	0.74	1.96	0.17	0.57	1.56*
		NIR	6	29	0.27	0.10	0.86	2.68	0.19	0.47	1.40
CVMS (% PV)	2.8.8.1	Vis+NIR	2	29	0.59	0.29	0.75	2.01	0.35	0.64	1.71
		NIR	4	29	0.59	0.26	0.81	2.28	0.32	0.69	1.83*
CVMO (% PV)	2.8.8.1	Vis+NIR	2	29	0.49	0.24	0.76	2.03	0.29	0.64	1.71
		NIR	4	29	0.49	0.22	0.80	2.26	0.26	0.70	1.85*
CVMS (g/kg PV ^{0.75})	2.8.8.1	Vis+NIR	3	29	15.3	6.30	0.83	2.42	7.57	0.74	2.01
		NIR	4	29	15.3	5.75	0.86	2.65	7.22	0.77	2.11*
CVMO (g/kg PV ^{0.75})	2.8.8.1	Vis+NIR	3	29	12.6	5.07	0.84	2.48	6.12	0.75	2.05
		NIR	4	29	12.6	4.71	0.86	2.67	5.82	0.78	2.16*

Vis+ NIR: segmento visible+infrarrojo cercano, NIR: Infrarrojo cercano, PLS: Número de términos empleados en la regresión, n: Número de muestras, DE: Desviación estándar, SEC: Error estándar de calibración, R²: Coeficiente de determinación de la calibración, SECV: Error estándar de validación cruzada, R²vc: Coeficiente de determinación en la validación cruzada, RPD: Desviación predictiva residual. *Ecuaciones seleccionadas.

Andueza et al. (2017) obtuvieron valores estadísticos de las calibraciones realizadas a partir de 1176 muestras fecales de ovinos para la DMO de forrajes frescos con SECV de 0.23 % DMO, R²vc de 0.86 y RPD de 2.61. Así mismo, Decruyenaere et al. (2009) desarrollaron calibraciones uniendo dos bases de datos con un total de 951 muestras fecales obtenidas de 14 bioensayos de digestibilidad y consumo con ovinos, en los cuales encontraron valores para la predicción de la DMO de SECV= 0.20 % DMO, R²= 0.92 y RPD= 3.35. Por otro lado, Landau et al. (2004) generaron calibraciones a partir de una base de datos conformada por 143 muestras fecales de cabras bajo confinamiento con dietas conformadas por heno y concentrado suministrados en diferentes proporciones,

junto a combinaciones de tres especies forrajeras usualmente consumidas por las cabras, para la predicción de DMS obteniendo SECV de 1.98 % DMS, R^2_{vc} de 0.98 y RPD de 5.45. Los resultados encontrados en estos tres trabajos son superiores a los reportados en el presente estudio, lo que puede estar relacionado con la cantidad de muestras fecales usadas y la variedad de dietas evaluadas, las cuales fueron superiores a las realizadas en este trabajo con 29 espectros fecales y seis tipos de regímenes alimenticios. Por otro lado, Núñez-Sánchez et al. (2012) reportó ecuaciones de DMS en conejos con SECV de SECV 0.02 g/kg MS, R^2 0.65 RPD 1.69, los cuales son similares a las encontradas en este estudio.

Los modelos predictivos para el consumo voluntario tanto de MS como de MO en kg/d presentaron mejor ajuste cuando se aplicó la primera derivada. Para la cantidad de MS y MO consumida al día se muestra mejores resultados con el tratamiento matemático 1.4.4.1 y el segmento Vis+NIR con SECV de 0.21 y 0.17 kg/d, R^2_{vc} de 0.58 y 0.57, así como un RPD de 1.57 y 1.56, respectivamente que los obtenidos con el segmento NIR con SECV de 0.25 y 0.19 kg/d, R^2_{vc} de 0.40 y 0.47 y un RPD de 1.31 y 1.40.

Cuando el CVMS y el CVMO fueron expresados en porcentaje del peso vivo se presentó mejor ajuste de los modelos cuando se aplicó la segunda derivada (2.8.8.1) y cuando se usó el segmento NIR con menores valores de SECV= 0.32 y 0.26 % PV, y mayores R^2_{vc} = 0.69 y 0.70 y RPD =1.83 y 1.85, respectivamente, comparados con los resultados del segmento Vis+NIR (SECV de 0.35 y 0.29 % PV, R^2_{vc} de 0.64 y 0.64 y RPD de 1.71 y 1.71, respectivamente). Cuando se generaron las calibraciones para el consumo voluntario de MS y de MO ajustado por el peso metabólico se obtuvieron mejores resultados con los tratamientos matemáticos sometidos a la segunda derivada (2.8.8.1) y con el segmento NIR mostrando SECV de 7.22 y 5.82 g/kg $PV^{0.75}$, R^2_{vc} de 0.77 y 0.78 y RPD de 2.11 y 2.16, respectivamente comparado con el segmento Vis+NIR (SECV=7.57 y 6.12 g/kg $PV^{0.75}$, R^2_{vc} =0.74 y 0.75 y RPD=2.01 y 2.05, respectivamente).

Los modelos NIRSf obtenidos para la predicción de CVMS en este trabajo son inferiores a los reportados por Landau et al. (2004) en estudios realizados con caprinos en los que se reportan valores de SECV de 0.126 g/d, R^2 de 0.83 y RPD 1.96. En otro estudio realizado

por Decruyenaere et al. (2009) mostraron resultados de las calibraciones para el CVMO de dos bases de datos CRA-W e INRA con SECV de 3.58 y 6.05 g/kg $PV^{0.75}$, R^2_{vc} de 0.89 y 0.66, RPD de 2.9 y 1.46, respectivamente, los cuales son similares a los encontrados en este estudio. Así mismo, Andueza et al. (2017) reportaron calibraciones con valores de SECV de 6.72 g/kg $PV^{0.75}$, R^2_{vc} de 0.64 y RPD de 1.37 para el CVMO de ovinos mediante un enfoque GLOBAL, los cuales son inferiores a los reportados en este trabajo.

3 Capítulo 3: Ecuaciones NIRSf para la estimación del consumo voluntario y digestibilidad de la materia orgánica en ovinos en confinamiento por método de marcadores

3.1 Introducción

El conocimiento de la cantidad de materia seca o materia orgánica que consumen los rumiantes es importante para evaluar el estado nutricional de los animales en los diferentes sistemas de producción (De Souza et al., 2014). Los métodos directos para la estimación de consumo en pastoreo no son fáciles de realizar y las metodologías no son prácticas en campo (Azevedo et al., 2014). Otros métodos requieren de la determinación de la cantidad de heces y de la digestibilidad del forraje, lo que dificulta su puesta en marcha en condiciones de campo (Gordon, 1995).

La excreción fecal medida con la ayuda de arneses puede tener complicaciones en cuanto a pérdidas de heces y adicionalmente estos pueden influir en el comportamiento normal en el pastoreo (Cottle, 2013). Es por este motivo que el uso de marcadores externos para la estimación de la excreción fecal ha sido desarrollado y es ampliamente usado, siendo el óxido de cromo el marcador inerte más implementado en rumiantes en pastoreo (Glindemann et al., 2009). Sin embargo, este tiene algunas desventajas en cuanto a la

variación en la tasa de recuperación en las heces y las propiedades carcinógenas que se le atribuyen (Myers et al., 2004).

Por otro lado, la digestibilidad puede ser estimada por medio de la determinación de marcadores internos (Azevedo et al., 2014; Cabral et al., 2017; Sampaio et al., 2011), los cuales consisten en sustancias naturales presentes en las plantas que no se digieren y se excretan en las heces, por ejemplo la digestión ruminal de la fibra en detergente neutro (FDN) se ve afectada en parte por una proporción que no es digerible (FDNi), que funciona como marcador interno y este se determina comúnmente como el residuo de FDN que queda después de incubaciones *in situ* o *in vitro* por largos periodos de tiempo que pueden ser entre 140 y 288 horas (Bender et al., 2016). La principal limitación que tiene este método es que para su determinación se requiere de muestras representativas del forraje que consume el animal, lo cual puede generar imprecisiones en las mediciones considerando que la recolección de muestras puede estar sesgada principalmente en praderas polifíticas (Decruyenaere et al., 2015).

Estos métodos se caracterizan adicionalmente por ser demasiado costosos y demandantes de tiempo para usarlos de forma rutinaria en los sistemas productivos de rumiantes, por lo que se ha demostrado que la tecnología NIRSf es un método potencial para evaluar la digestibilidad de la dieta y el consumo voluntario en ovinos y bovinos (Decruyenaere et al., 2009a; Fanchone et al., 2007; Mehtiö et al., 2016).

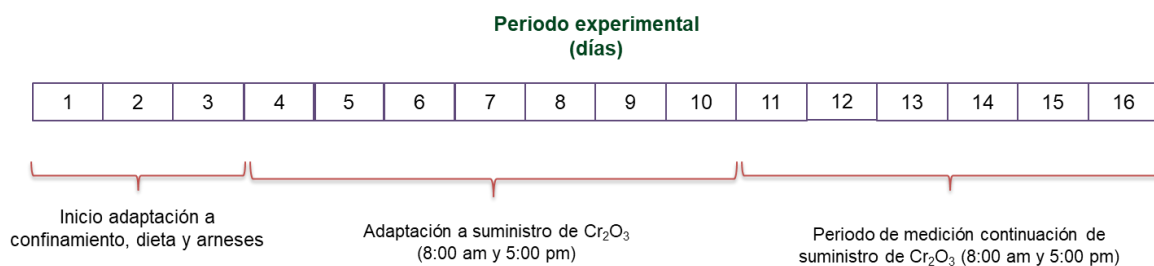
En este capítulo se muestran los resultados de digestibilidad y consumo voluntario obtenidos de los seis bioensayos realizados con ovinos evaluando diferentes regímenes alimenticios por el método de marcadores (óxido de cromo y FDNi), los cuales fueron usados posteriormente para el desarrollo de ecuaciones de predicción a través de los espectros fecales y sometidas a diferentes tratamientos matemáticos y segmentos espectrales.

3.2 Materiales y métodos

Los detalles experimentales generales se presentaron en el capítulo anterior en el numeral 2.2 y los detalles relacionados con la temática que aborda este capítulo se presentan a continuación:

Al inicio de cada periodo experimental cada ovino fue adaptado al ofrecimiento de las capsulas de marcador, suministrando los primeros 3 días harina de maíz mediante capsulas con 2.5 g empaquetadas en papel de celulosa dos veces al día (8:00 am y 5:00 pm), posteriormente, durante los siguientes 7 días se realizó la adaptación del marcador externo oxido de cromo (Cr_2O_3) suministrando a cada animal capsulas de 2.5 g empaquetadas en papel de celulosa (Langlands et al., 1963). De esta forma se mantuvo la dosificación las dos veces al día hasta finalizar el periodo experimental (día 16) como se muestra en la figura 3-1.

Figura 3-1. Esquema de adaptación y suministro de Cr_2O_3 durante cada periodo experimental en bioensayos con ovinos



La obtención de las muestras tanto de forraje ofrecido, forraje residual y heces se realizó bajo el mismo procedimiento descrito en el numeral 2.2.1.

3.2.1 Procesamiento de muestras

Las muestras recolectadas fueron secadas y molidas de acuerdo con el procedimiento descrito en el numeral 2.2.2 correspondiente al capítulo 2.

Cuantificación de marcador interno FDN indigestible *in vitro*

El contenido de FDN indigestible (FDNi) fue determinado en forrajes y en heces, como el residuo después de la fermentación *in vitro* de acuerdo con el procedimiento descrito por Bender et al. (2016). Todas las fermentaciones fueron realizadas usando una modificación del método descrito por Goering y Van Soest, (1970), implementando el uso de bolsas ANKOM F57 con un tamaño de poro de 25 μm (Ankom Technology, Macedon, NY) dentro de cada tubo incubado por triplicado según (Nordheim et al., 2007; Valentine et al., 2019). Para esto, fueron pesados 0.25 ± 0.0010 g de cada muestra (Valentine et al., 2019). Las muestras fueron incubadas durante un total de 288 horas, realizando una re-inoculación a las 144 horas para asegurar la sobrevivencia de los microorganismos ruminales. Aproximadamente 60 minutos antes de la inoculación, se realizó una hidratación de las muestras con 5 ml de solución buffer/medio atemperada a 39°C (Bender et al., 2016). El fluido ruminal fue colectado de un macho Holstein fistulado ruminalmente, alimentado con una dieta basada en pasto Kikuyo dentro del centro de investigación Tibaitatá de Agrosavia.

Treinta minutos después de la colecta el fluido fue mezclado con el medio de solución y la solución buffer previamente reducidos bajo condiciones de CO₂. La proporción final de fluido ruminal y medio/buffer fue de 5:20 ml siguiendo lo sugerido por Goering y Van Soest, (1970), manteniendo las condiciones de anaerobiosis y de temperatura a 39°C durante todo el tiempo de fermentación. Transcurridas 288 horas, las bolsas Ankom con muestra fueron removidas y transferidas a tubos falcón de capacidad de 50 ml adicionando 10 ml de solución de detergente neutro (DN) y posteriormente, de acuerdo con la metodología de Krämer et al. (2012) se congelaron a -20°C hasta realizar el procedimiento para

determinación de los contenidos de FDN del residuo descrito por Van Soest et al. (1991), adaptado para el equipo analizador de fibras ANKOM²⁰⁰ (*Ankom Technology*) y modificado con la adición de sulfito de sodio y α -amilasa termoestable durante la digestión de FDN y el primer enjuague tal como lo describe Mertens (2002). Se determinó el contenido de ceniza como factor de corrección después de la oxidación en una mufla a 600°C durante 4 horas.

La concentración de FDN_i en forrajes como proporción del contenido de FDN se determinó de acuerdo con Bender et al. (2016), usando la siguiente ecuación:

$$FDN_i (\%FDN) = 1 - ((PB_m - PBr)/P_m) * (\%FDN_f/100) - ((PCr_c - PCr)/P_m) * 100 * (100/\%MS105_f)$$

(Ecuación 3-1)

El contenido de FDN_i en muestras de heces fue determinado usando la siguiente ecuación:

$$FDN_i (\%MS) = 1 - ((PB_m - PBr)/P_m) - ((PCr_c - PCr)/P_m) * 100 * (100/\%MS105_h)$$

(Ecuación 3-2)

Donde,

PB_m= Peso bolsa y muestra a 65°C

PB_r= Peso bolsa y residuo después de 288 horas de incubación

P_m= Peso de la muestra

%FDN_f= Porcentaje de FDN inicial del forraje

PC_{r_c}= Peso del crisol con cenizas

PC_r= Peso del crisol vacío

%MS105_f= Porcentaje de MS a 105°C del forraje

%MS105_h= Porcentaje de MS a 105°C de las heces

Cuantificación de marcador externo óxido de cromo Cr₂O₃

Las muestras de forraje y heces previamente secas y molidas fueron pesadas en crisoles de porcelana por duplicado, las cuales fueron nuevamente sometidas a 105°C en estufa de aire forzado durante cuatro horas, se pesaron y se obtuvo el porcentaje de materia seca (MS), posteriormente, fueron calcinadas en horno de mufla Thermoline a 680°C por tres horas para eliminar completamente la materia orgánica y obtener cenizas blancas. Las cenizas se pesaron y se homogenizaron en un mortero.

La descomposición completa del Cr₂O₃ se llevó a cabo dentro del mismo crisol usando un medio de Sulfato de Manganeso (MnSO₄) y Bromato de sodio en ácido orto fosfórico (KBrO₃/H₃PO₄) y por calentamiento en plancha a 200 ± 5°C durante 12 minutos hasta la aparición de un color amarillento que indicó la digestión completa de la materia orgánica y el cambio de valencia de Cr³⁺ (sexquióxido) a Cr⁶⁺ (dicromato) de acuerdo con lo propuesto por De Souza et al., (2014). Después de una dilución adecuada de la digestión, el cromo (Cr) se cuantificó mediante espectrometría de emisión óptica de plasma acoplado (ICP-OES) en visión axial en un equipo iCAP 6500 DUO utilizando la línea de análisis 283.5 nm y un nebulizador concéntrico K-Type de Thermo Scientific. Las condiciones de operación para el ICP OES se resumen en la Tabla 3-1.

Tabla 3-1. Parámetros operativos generales ICP-OES para análisis de Cromo.

Parámetro	Condiciones
Velocidad Bomba de estabilización	100 rpm
Velocidad de la bomba análisis	50 rpm
Tiempo de estabilización de la bomba	5 s
Potencia RF	1150 W
Flujo Gas Auxiliar y de nebulización	0.5 L/min
Flujo Gas de refrigeración	12 L/min
Tipo de antorcha	EMT Style Duo Quartz Torch, Thermo Scientific, Ref: 842312051841
Tipo de nebulizador	K-Type concentric nebulizer argon conector, Thermo Scientific, Ref: 842312051431

La intensidad de las señales analíticas se interpoló en una curva de calibración externa entre (0,05 – 100 mg Cr⁶⁺/L) ($y_{ppm} = 14150x_{(Intensidad)} + 22320$; $R^2 = 0.9980$) preparada por duplicado a partir de la dilución en serie de una solución madre estándar de 1000 ± 2 mg/L usando un patrón de cromo para ICP marca Merck 1.70374.0100. Se preparó una solución “blanco” en paralelo a las determinaciones y su intensidad de señal se tuvo en cuenta para la normalización de los resultados. El límite de detección (LD) y el límite de cuantificación (LOQ) se determinaron en 0,045 mg/L (3s, n=10) y 0,050 mg/L (5s, n=10), respectivamente. Los datos analíticos se procesaron usando el Software iTeva 8.2. Todos los productos químicos usados fueron de grado analítico mínimo. Se utilizaron los siguientes reactivos de Merck (Darmstadt, Alemania): sulfato de manganeso tetrahidratado (98.5% de pureza), bromato de potasio (99.8 % de pureza), ácido orto fosfórico (85% de pureza). El argón de 99.9 % de pureza y el nitrógeno 99.9 % fue suministrado por Linde. El agua fue de alta pureza tipo 1 (resistividad de 18,2 MΩ•cm) obtenida de un sistema Milli-Q (Bedford, MA, EE. UU.). La concentración del elemento se realizó mediante la siguiente formula:

$$Cromo (ppm) = \frac{(Lectura * Vol final * factor de dilución)}{gramos de MS} \quad (Ecuación 3-3)$$

3.2.2 Estimación de consumo voluntario y digestibilidad por método de marcadores

El consumo voluntario por el método de marcadores se estimó por medio de la siguiente formula de acuerdo con lo reportado por Lippke, (2002):

$$Consumo voluntario (kg/d) = (Excreción fecal / 1 - Digestibilidad) * 100 \quad (Ecuación 3-4)$$

Donde la excreción fecal fue estimada a partir de la concentración de cromo en las muestras de heces (Owens & Hanson, 1992), mediante la siguiente formula:

$$\text{Excreción fecal (kg/d)} = \frac{\text{Dosis de marcador suministrado (g/d)}}{\text{Concentración de marcador en las heces (g/kg MS)} * (\text{Tasa de recuperación}/100)}$$

(Ecuación 3-5)

La tasa de recuperación del marcador externo oxido de cromo se calculó a partir de la siguiente formula:

$$\text{Tasa de recuperación (\%)} = \frac{\text{cromo excretado en heces (g/d)} * 100}{\text{cromo en el alimento (g/d)}}$$

(Ecuación 3-6)

La digestibilidad aparente del forraje se estimó por medio de la concentración de FDNi tanto en el forraje como en las heces de acuerdo con Cochran et al. (1986), mediante la siguiente formula:

$$\text{Digestibilidad (\%)} = \frac{(\text{MS ofrecida} - \text{MS residual}) - (\% \text{ FDNi en regimen alimenticio} / \% \text{ FDNi en heces}) * (\text{MS ofrecida} - \text{MS residual})}{(\text{MS ofrecida} - \text{MS residual})}$$

(Ecuación 3-7)

3.2.3 Análisis de espectroscopia y calibración de ecuaciones NIRSF

El análisis de espectroscopia y la calibración de ecuaciones para la estimación de digestibilidad y consumo voluntario por el método de marcadores se realizó aplicando la misma metodología detallada en el numeral 2.2.4 y 2.2.5 relacionando los espectros de las muestras fecales de los ovinos con los datos de referencia determinados por el método de marcadores como son la digestibilidad de la MS o MO (%) y el consumo voluntario expresado como kg MS o MO/d y como g MS o MO/kg PV^{0.75}.

3.2.4 Análisis estadístico

Las variables estimadas por el método de marcadores fueron sometidas a un análisis de varianza bajo un diseño completo al azar, con el régimen de alimentación como factor de tratamiento, utilizando el procedimiento GLM de SAS versión 9.4 (SAS Inst., Inc., Cary, NC) y la separación de medias se realizó con la prueba de Tukey ($P < 0.05$).

3.3 Resultados y discusión

3.3.1 Concentración de marcadores en muestras forrajes y heces

El contenido de FDNi en forrajes ofrecidos y forraje residual, así como el contenido de FDNi en las heces después de 288 horas de incubación *in vitro* en fluido ruminal de cada uno de los bioensayos ejecutados se muestran en la tabla 3-2. El régimen alimenticio de KKO+ANH presentó un mayor ($P < 0.05$) contenido de FDNi de 16.8 y 20.2 %, respectivamente en el forraje ofrecido y en el residual. En los regímenes alimenticios KKO+EM, RGO y KKF se observaron valores intermedios de FDNi, los cuales fueron similares entre sí ($P > 0.05$), mientras que el régimen que presentó menor valor de FDNi fue KKO+TLO ($P < 0.05$). El FDNi en las heces fue más alto para KKO+ALH y KKO+EM de 32.47 y 31.02 %, respectivamente, que fue diferente ($P > 0.05$) de RGO y KKO+ANH con valores intermedios (28.1 y 27 %, respectivamente) pero similares entre si ($P > 0.05$) y de los regímenes alimenticios de KKF y KKO+TLO con los valores más bajos 24.07 y 22.33 %, respectivamente.

Tabla 3-2. Promedio de fibra detergente neutro indigestible de forraje ofrecido, forraje residual y heces de ovinos.

Parámetro	Régimen alimenticio					
	KKF	RGO	KKO+ANH	KKO+ALH	KKO+TLO	KKO+EM
FDNi forraje ofrecido (% FDN)	12.6 ^c ±0.3	13.0 ^c ±0.1	16.9 ^a ±0.3	15.7 ^b ±0.3	10.1 ^d ±0.2	13.2 ^c ±0.3
FDNi forraje residual (% FDN)	12.9 ^c ±0.8	12.9 ^c ±0.3	20.2 ^a ±0.3	15.5 ^b ±0.3	9.6 ^d ±0.8	13.5 ^c ±0.2
FDNi heces (% MS)	24.1 ^c ±0.9	28.1 ^b ±0.7	27.0 ^b ±1.1	32.5 ^a ±1.7	22.4 ^c ±0.4	31.0 ^a ±1.3

FDN: Fibra en detergente neutro, FDNi: Fibra en detergente neutro indigerible, KKF: Kikuyo fresco; RGO: Ryegrass oreado; KKO+ANH: Kikuyo oreado + Angleton heno; KKO+ALH: Kikuyo oreado + Alfalfa heno;

KKO+TLO: Kikuyo oreado + Tilo oreado; KKO+EM: Kikuyo oreado + Maíz ensilaje. Letras diferentes en las filas indican diferencias significativas entre los regímenes alimenticios evaluados ($\alpha= 0,05$; Tukey).

En un estudio realizado por Lippke et al. (1986) en el que evaluaron heno de *Cynodon dactylon* y de *Sorghum bicolor* sometidos a fermentaciones *in vitro* e *in situ* por 8 días (192 horas), obtuvieron porcentajes de FDNi promedio en muestras de heno ofrecido, heno residual y de heces de ovinos de 26.1, 29.2 y 50.9 % respectivamente para análisis *in vitro* y de 25.5, 28.5 y 49.7 % para análisis *in situ*. Estos resultados difieren a los promedios obtenidos en el presente trabajo bajo análisis *in vitro* (13.58, 14.1 y 27.51 %, respectivamente), lo que puede estar asociado con el tiempo de incubación usado por ellos.

Cabral et al. (2017), realizaron dos experimentos en los que evaluaron diferentes niveles de inclusión de harina de cacao y niveles de glicerina cruda en la dieta determinando marcadores internos como materia seca indigerible, FDNi y FDAi *in situ* con ovinos bajo el sistema de alimentación *feedlot*, reportaron valores de FDNi consumido de 260.4 g/d y FDNi excretado de 225.7 g/d. Estos datos fueron superiores a los encontrados en este estudio los cuales fueron en promedio de 152.9 g/d de FDNi consumido y de 178.4 g/d de FDNi excretado.

Por otro lado Bettero et al. (2021), evaluaron el FDNi realizando la incubación *in situ* por 240 horas de muestras de concentrados, forrajes, subproductos y heces en diferentes especies de rumiantes alimentados con una dieta basada en ensilaje de maíz, en los que obtuvieron porcentajes de 19.4, 23.6 y 23.8 %, respectivamente para bovinos, caprinos y ovinos en muestras de forrajes (ensilaje de maíz, caña forrajera, *Brachiaria decumbens* y *Panicum maximun cv Tanzania*), así como valores de 31.5, 36.6 y 34.2 % en muestras de heces, respectivamente para cada especie de rumiante. En el caso de los datos reportados para ovinos fueron levemente superiores a los observados en este estudio con promedio de 13.58% de FDNi para forrajes y de 27.51% de FDNi en heces.

El promedio y desviación estándar de la excreción fecal estimada por Cr_2O_3 y medida por colecta total de heces (CTH) junto a la tasa de recuperación del Cr_2O_3 se muestra en la tabla 3-3. La estimación de la EF por medio del marcador externo Cr_2O_3 mostró correlación positiva ($r=0.89$; $P<0.001$) con la CTH. La EF estimada por Cr_2O_3 como marcador externo muestra que los regímenes alimenticios de KKF, RGO y KKO+TLO (0.44 kg MS/d, 0.53 kg MS/d y 0.53 kg MS/d, respectivamente), registraron los valores más bajos ($P<0.05$), comparado con los demás regímenes evaluados.

Tabla 3-3. Promedio de la excreción fecal estimada por marcador externo, medida por CTH y tasa de recuperación del cromo en heces de ovinos.

Parámetro	Régimen alimenticio					
	KKF	RGO	KKO+ANH	KKO+ALH	KKO+TLO	KKO+EM
EF Cr_2O_3 (kg MS/d)	0.44 ^c ±0.1	0.53 ^c ±0.1	0.86 ^a ±0.1	0.64 ^b ±0.1	0.53 ^c ±0.1	0.83 ^a ±0.1
EF CTH (kg MS/d)	0.42 ^d ±0.1	0.59 ^{bc} ±0.1	0.82 ^a ±0.03	0.63 ^{bc} ±0.04	0.57 ^c ±0.04	0.76 ^{ab} ±0.1
Tasa de recuperación (%)	85.4 ^a	82.1 ^{ab}	73.8 ^b	76.6 ^{ab}	81.6 ^{ab}	74.1 ^b

EF: Excreción fecal, Cr_2O_3 : Oxido de cromo, CTH: Colecta total de heces. KKF: Kikuyo fresco; RGO: Ryegrass oreado; KKO+ANH: Kikuyo oreado + Angleton heno; KKO+ALH: Kikuyo oreado + Alfalfa heno; KKO+TLO: Kikuyo oreado + Tilo oreado; KKO+EM: Kikuyo oreado + Maíz ensilaje. Letras diferentes en las filas indican diferencias significativas entre los regímenes alimenticios evaluados ($\alpha=0.05$; Tukey).

Los valores de las tasas de recuperación bajas pueden estar asociadas a que el peso atómico del Cr_2O_3 es de $5.2 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ lo que puede generar la sedimentación en los compartimentos digestivos, provocando bajas concentraciones en las heces, ya que la velocidad de paso de los materiales inertes a través del tracto digestivo es más o menos proporcional a su gravedad específica, así mismo, al ser un polvo extremadamente fino y poco soluble en agua, no se mezcla bien en la digesta y, al tener una gravedad específica mayor que la del alimento, puede tener características cinéticas diferentes (Barnicoat, 1945; Johnson et al., 1964). Adicionalmente, se puede considerar pequeñas pérdidas del Cr_2O_3 durante su suministro y de las heces lo que puede incidir en estas bajas tasas de recuperación.

De Souza et al. (2014) realizaron la evaluación de marcadores externos para la estimación de excreción fecal en vacas lecheras, reportaron un porcentaje de recuperación del Cr_2O_3 de 87.9%, la cual fue más alta al promedio de este trabajo de 78.9 % también reportaron excreción fecal colectada de 3.3 kg/d y de 3.7 kg/d estimada con Cr_2O_3 , la cual fue levemente sobreestimada por el Cr_2O_3 sin tener diferencias significativas. Por otro lado, Correa et al. (2009), reportaron una tasa de recuperación promedio de dos experimentos con vacas Holstein de $79.4 \pm 8.92\%$, la cual es similar a la obtenida en este estudio, atribuyendo esta baja tasa de recuperación al nivel de consumo del suplemento, el cual contenía el marcador ya que un consumo menor al asumido implica, por la misma razón, un menor consumo del marcador.

La excreción fecal (EF) medida por CTH fue mayor ($P < 0.05$) cuando los animales fueron alimentados con la mezcla de KKO+ANH (0.82 kg MS/d), similar a KKO+EM (0.76 kg MS/d) y las más bajas con KKO+TLO y KKF con 0.57 y 0.42 kg MS/d, respectivamente ($P < 0.05$). El promedio de la cantidad de heces excretadas encontrado en este trabajo (0.63 kg MS/d) fue superior al obtenido por Cabral et al. (2017) de 0.45 kg MS/d en dos ensayos donde se evaluaron diferentes niveles de inclusión de harina de cocoa y de glicerina en dietas de ovinos en confinamiento.

3.3.2 Consumo voluntario y digestibilidad de materia seca y materia orgánica por método de marcadores

En la tabla 3-4 se muestra los datos de digestibilidad y consumo voluntario de la materia seca y materia orgánica de diferentes regímenes alimenticios suministrados a ovinos bajo condiciones de confinamiento estimados mediante el marcador interno FDNi y marcador externo Cr_2O_3 . A nivel general la DMS fue más baja que la DMO, excepto para KKF. La DMS y DMO estimada por el marcador interno FDNi, fue mayor para KKO+EM (57.9 y 57.8 %, respectivamente) comparado con los regímenes alimenticios KKF (48.3 y 47.8 %, respectivamente) y KKO+ANH (46.8 y 47.9 %, respectivamente) con las digestibilidades más bajas ($P < 0.05$), mientras que los regímenes KKO+ALH, RGO y KKO+TLO fueron similares entre si ($P > 0.05$) con digestibilidades intermedias.

Tabla 3-4. Digestibilidad y consumo voluntario de la materia seca y materia orgánica de diferentes regímenes alimenticios suministradas a ovinos bajo condiciones de confinamiento estimados por el método de marcadores.

Régimen alimenticio	DMS (%)	DMO (%)	CVMS (kg/d)	CVMO (kg/d)	CVMS (% PV)	CVMO (% PV)	CVMS (g/kg PV ^{0.75})	CVMO (g/kg PV ^{0.75})
KKF	48.3 ^c ±2.2	47.8 ^c ±1.7	0.9 ^d ±0.1	0.6 ^c ±0.05	1.5 ^c ±0.4	1.2 ^c ±0.3	40.9 ^c ±7.9	31.7 ^c ±5.8
RGO	52.7 ^{ab} ±1.5	53.5 ^{ab} ±1.6	1.1 ^{cd} ±0.1	0.9 ^{bc} ±0.06	2.2 ^{bc} ±0.2	1.8 ^{bc} ±0.2	58.8 ^{bc} ±4.2	47.1 ^{bc} ±4.0
KKO+ANH	47.1 ^c ±2.7	47.8 ^c ±3.3	1.6 ^b ±0.1	1.4 ^b ±0.1	2.7 ^{ab} ±0.5	2.2 ^{ab} ±0.5	72.6 ^b ±10.5	62.4 ^b ±10.6
KKO+ALH	50.8 ^{bc} ±2.5	50.9 ^{bc} ±2.3	1.3 ^c ±0.1	1.0 ^b ±0.1	2.3 ^{bc} ±0.4	1.7 ^{bc} ±0.3	62.4 ^{bc} ±9.0	47.4 ^{bc} ±7.2
KKO+TLO	54.2 ^{ab} ±2.5	55.0 ^{ab} ±2.2	1.2 ^c ±0.2	0.9 ^{bc} ±0.1	2.2 ^{bc} ±0.6	1.7 ^{bc} ±0.5	60.6 ^{bc} ±12.4	46.6 ^{bc} ±11.1
KKO+EM	57.9 ^a ±1.8	57.7 ^a ±1.8	2.0 ^a ±0.2	1.5 ^a ±0.3	3.6 ^a ±0.7	2.7 ^a ±0.4	97.0 ^a ±16.2	73.1 ^a ±10.8
Valor P	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

DMS: Digestibilidad de la materia seca, DMO: Digestibilidad de la materia orgánica, CVMS: Consumo voluntario de materia seca CVMO: Consumo voluntario de materia orgánica. KKF: Kikuyo fresco; RGO: Ryegrass oreado; KKO+ANH: Kikuyo oreado + Angleton heno; KKO+ALH: Kikuyo oreado + Alfalfa heno; KKO+TLO: Kikuyo oreado + Tilo oreado; KKO+EM: Kikuyo oreado + Maíz ensilaje.

Mioto Da Costa et al. (2019) reportaron valores de DMS y DMO en ensayos con ovinos alimentados con *Brachiaria brizantha* (cv Marandu) estimada a partir de marcador interno FDNi con valores de 54.5 y 60.4 %, respectivamente, las cuales son levemente más altas a las encontradas en este estudio con valores promedio de 51.9 y 52.1 %, respectivamente. Por otro lado, Selcuk y Suphi, (2017) encontraron valores de digestibilidad en ovinos en pastoreo alimentados con una mezcla de forrajes de la familia *Lamiaceae* estimada a partir del alcanos impar (C₃₃) de 68.4 y 72.5 %, respectivamente para DMS y DMO, siendo superiores a las reportadas en este trabajo.

El CVMS y CVMO en kg por día, presento el valor más alto (P<0.05) en el régimen alimenticio KKO+EM (1.96 kg MS/d; 1.50 kg MO/d), los valores intermedios para los regímenes KKO+ANH (1.52 kg MS/d; 1.35 kg MO/d), KKO+ALH (1.33 kg MS/d; 0.99 kg MO/d), y KKO+TLO (1.20 kg MS/d; 0.91 kg MO/d) mientras que los consumos más bajos fueron con KKF (0.87 kg MS/d; 0.66 kg MO/d), RGO (1.13 kg MS/d; 0.90 kg MO/d). Esta

tendencia fue similar para el consumo expresado por % del peso vivo, el cual fue en promedio de 2.4 %, este resultado es consistente con la cantidad de MS requerida por ovinos, la cual es de 2.5% del PV según Selcuk y Suphi, (2017).

El consumo voluntario ajustado por el peso metabólico mostró el valor más alto ($P < 0.05$) para los ovinos alimentados con KKO+EM (73.15 g/kg $PV^{0.75}$) y el más bajo para KKF (31.70 g/kg $PV^{0.75}$). El CVMS (1.33 kg MS/d) en promedio obtenido en este estudio fue superior al reportado por Selcuk y Suphi, (2017) en ovinos en pastoreo estimado a partir del marcador externo Cr_2O_3 con un promedio de 0.72 kg MS/d, mientras que Mito Da Costa et al. (2019) reportaron CVMS promedio en ovinos confinados estimado a partir de los marcadores externos Cr_2O_3 y TiO_2 con valores de 0.99 y 1.2 kg MS/d, respectivamente, los cuales son más bajos que el CVMS obtenido en el presente estudio.

3.3.3 Calibración de ecuaciones para consumo voluntario y digestibilidad por método de marcadores

La estadística descriptiva de la DMS, DMO, CVMS y CVMO expresado en kg/d y en g/kg $PV^{0.75}$, estimados por el método de marcadores correspondiente a los grupos de muestras usadas para el proceso de calibración y validación de ecuaciones se observan en la tabla 3-5. Para todos los casos la desviación estándar fue inferior a la media aritmética de los datos. El rango encontrado para la DMS estimada por el FDNi fue de 43.46 a 60.06 % y para la DMO de 44.10 a 60.08%.

Tabla 3-5. Estadística descriptiva de los parámetros de digestibilidad y consumo de ovinos en confinamiento estimados mediante el método de marcadores a partir de muestras fecales para el proceso de calibración de ecuaciones.

Parámetro	Calibración				
	N	Media	DE	Min	Max
DMS (%)	29	51.85	4.38	43.46	60.06
DMO (%)	29	52.11	4.31	44.10	60.08
CVMS (kg/d)	29	1.35	0.39	0.74	2.17
CVMO (kg/d)	29	1.06	0.33	0.60	1.91
CVMS (% PV)	29	2.39	0.79	0.94	4.38
CVMO (% PV)	29	1.87	0.61	0.74	3.18
CVMS (g/kg PV ^{0.75})	29	65.04	19.96	28.25	116.2
CVMO (g/kg PV ^{0.75})	29	50.99	16.10	22.33	84.13

DMS: Digestibilidad de la materia seca, DMO: Digestibilidad de la materia orgánica, CVMS: Consumo de materia seca, CVMO: Consumo de materia orgánica, PV: Peso vivo. PV^{0.75}: Peso metabólico, N: Número de muestras, DE: Desviación estándar, Min: Mínimo, Max: Máximo.

Johnson et al. (2017) obtuvieron rangos de DMS estimada por el marcador interno de ceniza acida insoluble (AIA, por sus siglas en inglés) entre 47.4 y 82.6 % de bovinos de carne alimentados con dietas fibrosas para la posterior calibración de ecuaciones NIRSF contando con 155 muestras fecales. Así mismo, Mehtiö et al. (2016) en ensayos realizados con vacas de leche alimentadas con ensilaje de festuca con variedad de granos de cebada ofrecida como una Ración totalmente mezclada (TMR, por su sigla en inglés), encontraron rangos de DMS estimada con el marcador interno AIA entre 66.6 a 77.6 %, así como DMO entre 67.9 y 78.2 %, estimada por el mismo método en un grupo de 101 muestras para posterior calibración de ecuaciones NIRSF.

La cantidad de MS consumida por día estuvo entre 0.74 y 2.17 kg/d y el CVMO con un rango de 0.60 a 1.91 kg/d. El CVMS expresado en porcentaje del peso vivo osciló entre 0.94 y 4.38 % y el CVMO entre 0.74 y 3.18 %. Cuando el CVMS fue ajustado por el peso metabólico se encontró valores que oscilaron entre 28.3 y 116.2 g/kg PV^{0.75} y para el CVMO de 22.3 a 84.1 g/kg PV^{0.75}. Johnson et al. (2017) reportó rango de CVMS estimado por

marcador interno AIA y EF medida por CTH en bovinos de carne entre 57.6 y 167 g/kg PV^{0.75}, en el set de calibración de ecuaciones NIRSf, los cuales son más altos a los encontrados en este trabajo.

En la tabla 3-6, se muestran las estadísticas para las calibraciones generadas en cada uno de los parámetros sometidas a diferentes tratamientos matemáticos y dos segmentos espectrales (Visible+NIR y NIR). A nivel general, para todos los parámetros se encontraron mejores resultados estadísticos cuando fueron sometidos a los tratamientos matemáticos con la segunda derivada y en cuanto a la digestibilidad tanto de MS como de MO fueron mejores con el segmento Vis+NIR y para el consumo de MS y MO expresado de diferentes formas fue mejor cuando se usó el segmento NIR. Específicamente, la digestibilidad tanto de la MS como de MO, tuvieron valores más bajos de SECV (2.46 % DMS y 2.28 % DMO, respectivamente) y más altos R²vc (0.67 y 0.71, respectivamente) y RPD (1.78 y 1.89, respectivamente) con el tratamiento matemático 2.4.4.1 y cuando se contempló el segmento espectral Vis+NIR.

Tabla 3-6. Estadísticas de las ecuaciones generadas para DMS, DMO, CVMS y CVMO estimados por el método de marcadores en ovinos en confinamiento.

Parámetro	Tratamiento matemático	Segmento	PLS	N	DE	Calibración			Validación cruzada		
						SEC	R ²	RPD	SECV	R ² vc	RPD
DMS (%)	2.4.4.1	Vis+NIR	5	29	4.38	1.50	0.88	2.92	2.46	0.67	1.78*
		NIR	4	29	4.38	1.92	0.81	2.29	2.59	0.64	1.69
DMO (%)	2.4.4.1	Vis+NIR	3	29	4.31	1.91	0.80	2.26	2.28	0.71	1.89*
		NIR	4	29	4.31	1.79	0.83	2.41	2.38	0.69	1.81
CVMS (kg/d)	2.8.8.1	Vis+NIR	5	29	0.39	0.09	0.94	4.18	0.17	0.80	2.26
		NIR	5	29	0.39	0.08	0.95	4.63	0.15	0.84	2.58*
CVMO (kg/d)	2.8.8.1	Vis+NIR	5	29	0.33	0.07	0.95	4.43	0.13	0.84	2.52*
		NIR	5	29	0.33	0.08	0.93	3.89	0.15	0.80	2.25
CVMS (% PV)	2.8.8.1	Vis+NIR	2	29	0.79	0.49	0.61	1.60	0.61	0.38	1.30
		NIR	3	29	0.79	0.46	0.66	1.73	0.61	0.39	1.30*
CVMO (% PV)	2.8.8.1	Vis+NIR	1	29	0.61	0.42	0.52	1.45	0.48	0.37	1.28
		NIR	2	29	0.61	0.41	0.55	1.50	0.47	0.39	1.31*
CVMS (g/kg PV ^{0.75})	2.8.8.1	Vis+NIR	2	29	20.0	10.9	0.70	1.84	13.3	0.54	1.50
		NIR	4	29	20.0	9.59	0.77	2.08	12.8	0.57	1.56*
CVMO (g/kg PV ^{0.75})	2.8.8.1	Vis+NIR	2	29	16.1	9.25	0.67	1.74	11.1	0.51	1.45
		NIR	4	29	16.1	8.19	0.74	1.97	10.7	0.55	1.51*

Vis+ NIR: segmento visible+infrarrojo cercano, NIR: Infrarrojo cercano, PLS: Número de términos empleados en la regresión, n: Número de muestras, DE: Desviación estándar, SEC: Error estándar de calibración, R²: Coeficiente de determinación de la calibración, SECV: Error estándar de validación cruzada, R²vc: Coeficiente de determinación en la validación cruzada, RPD: Desviación predictiva residual. *Ecuaciones seleccionadas.

En cuanto al CVMS y CVMO al día, se obtuvieron mejores calibraciones con el tratamiento matemático con segunda derivada (2.8.8.1). Así mismo, se encontraron mejores resultados estadísticos cuando se realizaron usando el segmento NIR y Vis+NIR, respectivamente, con menores SECV (0.15 y 0.13 kg/d, respectivamente para CVMS y CVMO), mayores valores de R²vc (0.84 y 0.84, respectivamente) y de RPD (2.58 y 2.52, respectivamente), comparado con los demás tratamientos matemáticos y el otro segmento evaluado. En el caso del CVMS y CVMO expresado en porcentaje de peso vivo, obtuvo resultados menos favorables, sin embargo, las mejores estadísticas fueron con el tratamiento matemático 2.8.8.1 y el segmento NIR con valores de SECV de 0.61 y 0.47 % PV, R²vc de 0.39 y 0.39 y RPD de 1.30 y 1.31 respectivamente. En cuanto a la cantidad de gramos consumidos

por cada kg de peso metabólico, las mejores ecuaciones fueron las que se evaluaron con los tratamientos matemáticos bajo la segunda derivada (2.8.8.1) y el segmento NIR. El CVMS mostró valores de SECV de 12.8 g/kg PV^{0.75}, R²_{vc} de 0.57 y RPD de 1.56, mientras que el CVMO obtuvo valores de SECV de 10.7 g/kg PV^{0.75}, R²_{vc} de 0.55 y RPD de 1.51.

En otro trabajo realizado por Johnson et al. (2017) para la calibración de ecuaciones de consumo voluntario y digestibilidad estimados con el método de marcadores en ganado de carne reportaron valores para DMS con SECV de 4.31 % DMS y un R²_{vc} de 0.82 y para CVMS valores de SECV de 11.8 g/kg PV^{0.75} y R²_{vc} de 0.73, los cuales son más altos a los reportados en este trabajo. Así mismo, Mehtiö et al. (2016) quienes realizaron las calibraciones con datos de DMO estimados por marcador interno AIA en ensayos con vacas lecheras, reportaron SECV de 17.7 %, R²_{vc} de 0.66 y RPD de 1.7, los cuales son inferiores a los encontrados en este estudio.

Los resultados obtenidos para el CVMO en este trabajo son consistentes con los reportados por Decruyenaere et al. (2003) quienes realizaron la comparación del consumo voluntario de MO estimado por método gravimétrico a partir de diferentes combinaciones de alcanos (C₃₁, C₃₂, C₃₃ y C₃₆) y predicho con una ecuación NIRSf previamente calibrada con 1011 muestras fecales de ovinos alimentados con forraje fresco con resultados estadísticos de SECV de 5.11 g/kg PV^{0.75}, R²_{vc} de 0.84 y RPD de 2.3. En este análisis encontraron diferencias significativas (P<0.001) entre el CVMO medido con el método gravimétrico (56.9 g/kg PV^{0.75}) y el estimado con el método de alcanos (37.8 g/kg PV^{0.75}), el cual presentó una subestimación del 32.4%, mientras que el CVMO estimado por el modelo predictivo usando NIRSf (56.6 g/kg PV^{0.75}) fue igual al medido por el método gravimétrico (P>0.001).

4 Capítulo 4. Aplicación de ecuaciones NIRSF para la predicción de digestibilidad y consumo voluntario de ovinos en pastoreo

4.1 Introducción

Los sistemas ganaderos de Colombia representan una actividad de gran importancia para el sector agropecuario del país, registrando un crecimiento de 3,8% en el segundo trimestre del año 2021 y con un PIB del 3% (FEDEGAN, 2021) Sin embargo, presenta problemas asociados principalmente al desempeño productivo de los animales (UPRA, 2020, 2021), lo que puede deberse al manejo nutricional en los sistemas de alimentación. Una estrategia para mejorar la eficiencia alimenticia en los sistemas productivos requiere de medir con precisión el consumo voluntario de forma individual en pastoreo, el cual no suele estimarse debido al alto requerimiento de mano de obra y al costo que representa bajo condiciones comerciales (Davison et al., 2021).

El desarrollo de la tecnología NIRS basada en espectros fecales (NIRSF) ha permitido la predicción de las características de las dietas de rumiantes y demás herbívoros, así como resultados prometedores para la predicción del consumo voluntario bajo condiciones de pastoreo (Brooks et al. 1984, Norris et al., 1976; Ward et al., 1982, Decruyenaere et al., 2009a; Fanchone et al., 2007; Mehtiö et al., 2016). Sin embargo, los resultados para parámetros como digestibilidad y consumo voluntario han sido variables y la disponibilidad de bases de datos para el desarrollo de calibraciones NIRSF sólidas a nivel mundial son limitadas, lo que genera la necesidad de hacer más investigación, considerando conjuntos de datos de tamaño suficiente ($n > 2000$) y con una gran variabilidad para generar

ecuaciones de predicción sólidas y precisas para estimar el consumo de forraje en diferentes sistemas productivos bajo condiciones de pastoreo (Johnson et al., 2017).

Por lo tanto, se hace necesaria la exploración más a fondo de esta tecnología ya que ofrece múltiples ventajas sobre los métodos tradicionales más usados para estimar las características de la dieta y el consumo de forrajes; entre ellas que proporciona un análisis no destructivo, de bajo costo y que no requiere una preparación laboriosa de la muestra fecal. Adicionalmente, este método indirecto permite la medición de la variación entre animales en cuanto a parámetros relacionados con la digestibilidad del forraje y el consumo voluntario.

En este capítulo se muestran los resultados de digestibilidad y consumo voluntario obtenidos del ensayo realizado con ovinos bajo condiciones de pastoreo en una pradera de Kikuyo estimado a partir del método de marcadores, así como el análisis del potencial predictivo de las ecuaciones NIRSf calibradas con los bioensayos realizados bajo confinamiento con estimaciones basadas por el método de marcadores.

4.2 Materiales y métodos

4.2.1 Obtención de muestras

El estudio se llevó a cabo en la Unidad de bioensayos de nutrición animal de la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Agrosavia), en el Centro de investigación Tibaitata, donde se realizó un bioensayo con ovinos para determinar el consumo voluntario y la digestibilidad de forraje en condiciones de pastoreo.

Se usaron cinco ovinos machos cruzados con raza Romney Marsh mayores de un año, con edades diferentes y con peso vivo promedio de 58.3 ± 11.0 kg de dos lotes de animales de diferente procedencia. Los animales fueron ubicados en franjas de pastoreo en una pradera de 77 días de rebrote conformada por una mezcla de pasto Kikuyo (*Cenchrus*

clandestinus), Ryegrass (*Lolium perenne*) y Falsa poa (*Holcus Lanatus*), cuya composición química fue de 86.35 % de MO, 13.95 % de proteína cruda, 7.82 % de ceniza, 2.41 % de extracto etéreo, 52.51 % de FDN, 32.9 % de FDA, 5.21 % de lignina, 5.99 % de almidón total y 6.03 % de carbohidratos solubles.

Los ovinos fueron manejados de acuerdo con el protocolo establecido; durante el día en pastoreo individual por franjas y en horas de la noche se alojaron en corrales con agua *ad libitum*. Fueron pesados en una báscula digital portátil al inicio y al final del periodo experimental, el cual constó de un total de 16 días, donde los 10 primeros días correspondieron al periodo de adaptación (a la dieta y al marcador externo) y los últimos 6 días, al periodo de medición y a la recolección de muestras del forraje ofrecido por el método de *hand-plucking* antes de ingresar a la franja y de heces mediante arneses dotados de bolsas colectoras.

4.2.2 Procesamiento de muestras

Las muestras recolectadas de forraje ofrecido y heces fueron secadas, en el laboratorio de química analítica del centro de investigación Tibaitatá de Agrosavia, siguiendo el mismo procedimiento detallado en el capítulo 2 en el numeral 2.2.2.

Tanto la cuantificación del marcador interno FDNi *in vitro* en forraje ofrecido y heces, así como la del marcador externo óxido de cromo en heces se realizó de acuerdo con el procedimiento descrito en el capítulo 3 en el numeral 3.2.1.

4.2.3 Estimación de consumo voluntario y digestibilidad por método de marcadores en condiciones de pastoreo

El consumo voluntario por el método de marcadores se estimó por medio de la siguiente formula de acuerdo con la ecuación 3-4 descrita en el numeral 3.2.2 correspondiente al capítulo 3.

4.2.4 Predicción de consumo voluntario y digestibilidad usando ecuaciones NIRSF

Las ecuaciones de calibración de DMS, DMO, CVMS y CVMO seleccionadas en el capítulo 3 se utilizaron para hacer la predicción de estos parámetros en el espectro promedio de las heces de los seis días de medición (un espectro por animal).

4.3 Resultados y discusión

4.3.1 Consumo voluntario y digestibilidad de materia orgánica por método de marcadores en ovinos en pastoreo

En la tabla 4-1 se muestra los datos de digestibilidad y consumo voluntario de la materia seca y materia orgánica individual de ovinos bajo condiciones de pastoreo estimados mediante el marcador interno FDNi y marcador externo oxido de cromo. La digestibilidad tanto de MS como de MO fueron más altas (64.9 y 64.1 % DMS; 59.7 y 58.5 % DMO), respectivamente para los ovinos con mayor peso vivo (85 y 77 g), así como las digestibilidades más bajas (64.9 y 64.1 % DMS; 59.7 y 58.5 % DMO), para los ovinos con menor peso vivo (50.5, 50.9 y 51.5 % DMS; 43.2, 46.1 y 45.2 % DMO), respectivamente para los ovinos con peso vivo más bajo (68, 52 y 55 kg), lo cual se puede observar a través de la siguiente regresión ($DMS = 25.349 + 0.460x PV$, $R^2 = 0.75$) con una $P = 0.055$. entre estos parámetros con el peso corporal de los animales. Adicionalmente, el comportamiento en la digestibilidad de la materia seca y materia orgánica se puede relacionar también con

el nivel de pureza de la raza en los animales, la cual es desconocida, teniendo en cuenta que los dos primeros ovinos pertenecen a un lote de animales diferente de los demás ovinos.

Tabla 4-1. Promedio de la digestibilidad y consumo voluntario de la materia seca y materia orgánica individual de ovinos bajo condiciones de pastoreo estimados mediante el marcador interno FDNi y marcador externo óxido de cromo.

Animal	PV (kg)	DMS (%)	DMO (%)	CVMS (kg/d)	CVMO (kg/d)	CVMS (% PV)	CVMO (% PV)	CVMS (g/kg PV ^{0.75})	CVMO (g/kg PV ^{0.75})
Ovino 1	85	64.9	69.4	2.3	1.5	2.5	1.7	78.4	51.8
Ovino 2	77	64.0	68.8	1.9	1.3	2.6	1.7	76.2	49.8
Ovino 3	68	50.5	56.8	1.2	0.8	1.7	1.1	49.4	33.2
Ovino 4	52	50.9	55.2	0.8	0.6	1.6	1.1	42.4	30.4
Ovino 5	55	51.5	57.0	1.1	0.7	2.1	1.4	56.7	37.7

PV: Peso vivo, DMS: Digestibilidad de la materia seca, DMO: Digestibilidad de la materia orgánica, MO: Materia orgánica, CVMS: Consumo voluntario de materia seca CVMO: Consumo voluntario de materia orgánica.

Existe poca información en la literatura que pueda explicar la relación entre la digestibilidad y el peso corporal, la cual es poco consistente ya que en condiciones experimentales no se suele manejar un gran número de animales confinados que permita comparaciones estadísticas. Sin embargo, Jeffery, (1976) en tres ensayos con 10 ovinos evaluando el efecto de la cantidad de forraje ofrecido y el peso vivo de los animales en cuanto a la digestibilidad de nutrientes, encontró una correlación significativa entre el peso vivo de las ovejas y la DMS ($P < 0.01$), por el contrario, en ensayos con vacas los resultados no fueron significativos para la relación entre estas dos variables (Morgan & Campling, 1978).

El consumo de MS y de MO por día fue más alta para los ovinos 1 y 2 con 1.9 y 2.3 kg MS/d y 1.5 y 1.3 kg MO/d, respectivamente, así como los más bajos para los demás ovinos con un rango entre 0.8 a 1.2 kg MS/d y 0.6 a 0.8 kg MO/d, lo cual también puede estar asociado al tamaño y peso corporal de los animales usados en el ensayo. Cuando el consumo fue expresado por el porcentaje del peso vivo, los ovinos 1, 2 y 5 presentaron los

porcentajes más altos >2 % PV para el caso del CVMS y de 1.7 % PV para el CVMO, mientras que los demás animales tuvieron un CVMS en promedio de 1.65 % PV y consumo de MO de 1.1 % PV.

El promedio del CVMS obtenido en el ensayo en pastoreo fue de 2.1 % PV y fue inferior al encontrado en los ensayos en confinamiento por el método de marcadores (2.4 % PV), esto se pudo dar ya que bajo el confinamiento no se tiene la exposición a las condiciones ambientales externas, las cuales pueden tener un efecto en el comportamiento del consumo voluntario. De esta forma, este comportamiento también se reflejó cuando el consumo de MS y de MO fue ajustado por el peso metabólico siendo más alto para los ovinos 1 y 2 con promedio de 77.3 y de 50.8 g/kg $PV^{0.75}$, respectivamente para CVMS y CVMO, mientras que los más bajos fueron para los demás animales con un rango entre 42.9 y 56.7 g/kg $PV^{0.75}$ de CVMS y de 30.4 a 37.7 g/kg $PV^{0.75}$ para el CVMO.

Se realizó la predicción de estos parámetros usando las mejores ecuaciones obtenidas que fueron calibradas con los datos de marcadores bajo confinamiento descritas en el capítulo 3 de este trabajo. Los resultados de las predicciones para DMS, DMO, CVMS y CVMO expresado de diferentes formas, así como el valor de "H" global se muestran en la tabla 4-2. La DMS y DMO predichos por ecuaciones NIRSf muestra que los valores son similares entre animales (entre 52.7 y 55.6 % para DMS y de 59 % para DMO) comparado con el comportamiento de los datos observados estimados por medio de marcadores presentados en la tabla 5-1, los cuales tuvieron un rango más amplio para estos parámetros.

Tabla 4-2. Promedio de digestibilidad y consumo voluntario de materia seca y materia orgánica individual de ovinos bajo condiciones de pastoreo predichos mediante la ecuación NIRSf y sus valores de “H” Global.

Animal	DMS (%)	DMO (%)	CVMS (kg/d)	CVMO (kg/d)	CVMS (% PV)	CVMO (% PV)	CVMS (g/kg PV^{0.75})	CVMO (g/kg PV^{0.75})	H Global*
Ovino 1	52.7	59.0	1.2	0.7	2.0	1.5	59.7	38.4	3.68
Ovino 2	52.7	59.1	1.4	0.9	2.8	1.8	78.8	52.7	4.26
Ovino 3	53.0	59.1	1.5	1.0	3.0	1.9	83.7	56.4	4.29
Ovino 4	52.9	59.0	1.2	0.8	2.1	1.5	62.3	41.5	2.36
Ovino 5	55.6	59.9	1.5	1.0	2.7	1.9	76.6	52.7	4.09

* Critical “GH”: Distancia entre el espectro de la muestra y la media de la población de la calibración. PV: Peso vivo, DMS: Digestibilidad de la materia seca, DMO: Digestibilidad de la materia orgánica, MO: Materia orgánica, CVMS: Consumo voluntario de materia seca CVMO: Consumo voluntario de materia orgánica.

Los datos predichos con las ecuaciones NIRSf para el CVMS y CVMO expresado de las diferentes formas son más bajos (aprox. 12.8%) a los estimados por el método de marcadores y al igual que para la digestibilidad de MS y de MO se presentan valores más homogéneos entre animales que cuando se estiman por método de marcadores, notándose diferencias en el comportamiento de los datos predichos con respecto a los observados.

El comportamiento de los resultados predichos de digestibilidad y consumo, se debe a que los valores de “H” global, que definen la distancia espectral de la muestra escaneada en relación con la media espectral de la población, superan el valor recomendado de 3.0 de acuerdo a lo reportado por Shenk y Westerhaus, (1994), excepto el ovino 4 que presenta un valor aceptable de 2.36, indicando que las muestras fecales tomadas del experimento de pastoreo difieren espectralmente de las muestras fecales de los ensayos en confinamiento, a pesar de que corresponden a los mismos animales, lo que puede deberse a que la selectividad de los animales sumado a las condiciones ambientales externas influyen en el consumo y digestibilidad del forraje, por lo que se requiere del robustecimiento de las calibraciones, adicionando resultados de un mayor número de ensayos realizados en condiciones de pastoreo y de esta forma lograr una buena capacidad predictiva de estos modelos NIRSf.

5 Discusión general y conclusiones

5.1 Discusión general

5.1.1 Comparación de la estimación de digestibilidad y consumo voluntario por diferentes métodos en confinamiento

La determinación del método con mejor ajuste a los valores observados por gravimetría se realizó mediante la determinación de los estadísticos, raíz del cuadrado medio del error (RCME), el error medio absoluto (EMA) y el coeficiente de determinación ajustado (R^2 ajustado), a partir los residuales obtenidos en dos análisis de regresión lineal, donde se consideraron los valores del método gravimétrico como variable observada y los valores estimados por el método de marcadores y NIRSf como variable de predicción, respectivamente. Los análisis se realizaron utilizando el procedimiento REG de SAS versión 9.4 (SAS Inst., Inc., Cary, NC) (Tabla 5-1).

Tabla 5-1. Parámetros estadísticos de comparación de la tecnología NIRSf y marcadores con el método gravimétrico para la estimación de la digestibilidad y consumo voluntario de materia seca.

	DMS (%)		DMO (%)		CVMS (g/kg PV ^{0.75})		CVMO (g/kg PV ^{0.75})	
	Marcadores	NIRSf	Marcadores	NIRSf	Marcadores	NIRSf	Marcadores	NIRSf
RCME	6.1	4.8	5.5	4.4	12.2	8.9	10.2	7.2
EMA	4.7	3.8	4.5	3.5	10.4	7.6	8.5	6.1
R^2 ajustado	0.4	0.6	0.4	0.6	0.6	0.7	0.6	0.7

RCME: Raíz del cuadrado medio del error, EMA: Error medio absoluto, R^2 ajustado: Coeficiente de determinación ajustado.

La precisión de los datos obtenidos por un método es definida como la mínima dispersión de las mediciones realizadas de una misma forma y esta mide el error aleatorio de un

análisis mediante los valores de RCME que permiten evaluar el nivel general de la exactitud en la predicción de los parámetros evaluados junto con el EMA, lo que indica que a menores valores se refleja una mayor exactitud y precisión. Adicionalmente, el coeficiente de determinación ajustado permite determinar el grado de predicción de cada parámetro, indicando que cuanto mayor fue el valor de R^2 mayor será la explicación que hace el modelo de la dispersión en la DMS, DMO, CVMS y CVMO. En este estudio, los valores predichos con las ecuaciones NIRSf mostraron mejor ajuste por su menor RCME, EMA y mayor valor de R^2 ajustado comparado con el método de marcadores.

Adicionalmente, la tecnología NIRS fecal ofrece múltiples ventajas una vez se cuente con ecuaciones robustas en cuanto a la rapidez y facilidad para obtener resultados confiables de forma rutinaria, sin embargo, puede estar limitada si en los modelos generados no hay suficientes muestras que representen la variación tanto de la DMS como del CVMS de los diferentes sistemas de producción.

5.2 Conclusiones

La DMO mostró una asociación negativa con el contenido de FDN de los regímenes alimenticios; por cada unidad porcentual de aumento en el FDN en el régimen la DMO disminuyó en 1.4 %.

El CVMO mostró una asociación positiva con el contenido de almidón indicando que por cada unidad porcentual de aumento de almidón en el régimen alimenticio el CVMO aumentó en 3.5 g/kg $PV^{0.75}$.

La estimación de la EF por medio del marcador externo Cr_2O_3 mostró correlación positiva ($r=0,89$; $P<0,001$) con la CTH.

El mejor modelo predictivo NIRSf de la DMS y DMO fue cuando se utilizó como método de referencia el marcador interno FDNi (R^2 0.67 y 0.71, RPD 1.78 y 1.89, respectivamente)

El mejor modelo predictivo NIRSf de CVMS y CVMO fue cuando se utilizó como referencia el método gravimétrico (R^2 0.77 y 0.78, RPD 2.11 y 2.16, respectivamente).

Se demostró que la tecnología NIRS fecal tiene potencial para la predicción del DMS, DMO, CVMS y CVMO en ovinos.

Las calibraciones NIRSf generadas bajo condiciones de confinamiento no pueden ser utilizadas bajo condiciones de pastoreo porque la distancia Mahalanobis H fue superior a 3.

5.3 Recomendaciones

Las ecuaciones generadas en el presente estudio no cuentan con la robustez suficiente para realizar las predicciones en condiciones de pastoreo, por lo que se recomienda continuar con estudios que cubran las fuentes de variación de las variables DMS, DMO, CVMS y CVMO de los diversos sistemas de alimentación de ovinos en Colombia, con el fin de poder usar NIRSf como método analítico rápido y confiable.

6 Bibliografía

- Acamovic, T., Murray, I., & Paterson, R. M. (1992). *The use of NIR in predicting chromic oxide in diets*. In Murray I. and A.I., eds. *Making light work. Advances in near infrared spectroscopy*. Ian Michael Publications, pp 250-252.
- Adesogan, A. T., Givens, D. I., & Owens, E. (2000). Measuring chemical composition and nutritive values in forages. Field and laboratory methods for grassland and animal production research. In *CAB International* (pp. 263–278).
- AGROSAVIA. (2017). *AlimenTro [Sistema de información]*.<https://Alimento.Agrosavia.co/>
- Akdağ, A., & Ocak, N. (2019). Herbage Intake Determination Methods of Grazing Animals. *Animal Science*, 52 (1).
- Allen, M. S. (1996). Physical constraints on voluntary intake of forages by ruminants. *Journal Animal Science*, 74, 3063–3075.
- Allison, C. D. (1985). Factors affecting forage intake by range ruminants: a review. *J. Range Manage.*, 38, 305.
- Andueza, D., Picard, F., Dozias, D., & Aufrère, J. (2017). Fecal Near-Infrared Reflectance Spectroscopy Prediction of the Feed Value of Temperate Forages for Ruminants and Some Parameters of the Chemical Composition of Feces: Efficiency of Four Calibration Strategies. *Applied Spectroscopy*, 71(9), 2164–2176. <https://doi.org/10.1177/0003702817712740>
- Arana, I., Jarén, C., & Arazuri, S. (2005). Maturity, Variety and Origin Determination in White Grapes (*Vitis Vinifera* L.) Using near Infrared Reflectance Technology. *J. Near Infrared Spectrosc.*, 13(6), 349–357.
- Ariza-Nieto, C., Mayorga, O. L., Mojica, B., Parra, D., & Afanador-Tellez, G. (2018). Use of LOCAL algorithm with near infrared spectroscopy in forage resources for grazing systems in Colombia. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, 26(1), 44–52. <https://doi.org/10.1177/0967033517746900>

- Arthington, J. D., & Brown, W. F. (2005). Estimation of feeding value of four tropical forage species at two stages of maturity. *Journal Animal Science*, *83*, 1726–1731.
- Azevedo, E. B., Poli, C. H. E. C., David, D. B., Amaral, G. A., Fonseca, L., Carvalho, P. C. F., Fischer, V., & Morris, S. T. (2014). Use of faecal components as markers to estimate intake and digestibility of grazing sheep. *Livestock Science*, *165*(1), 42–50. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2014.04.018>
- Barnicoat, C. R. (1945). Estimation of apparent digestibility coefficients by means of an inert reference-substance. *New Zealand Journal of Science and Technology*, *27*(A), 202–212.
- Bartiaux-Thill, N., & Oger, R. (1986). The indirect estimation of the digestibility in cattle of herbage from Belgian permanent pasture. *Grass Forage Sci*, *41*, 269–272.
- Baumont, R., Prache, S., Meuret, M., & Morand-Fehr, P. (2000). How forage characteristics influence behaviour and intake in small ruminants: a review. *Livestock Science*, *64*, 15–28.
- Bender, R. W., Cook, D. E., & Combs, D. K. (2016). Comparison of in situ versus in vitro methods of fiber digestion at 120 and 288 hours to quantify the indigestible neutral detergent fiber fraction of corn silage samples. *Journal of Dairy Science*, *99*(7), 5394–5400. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10258>
- Bettero, V. P., Campos, A. F., Dib, V., del Valle, T. A., Zilio, E. M. C., Teixeira, I. A. M. A., Siqueira, G. R., & Rennó, F. P. (2021). Indigestible neutral detergent fiber evaluation with incubation in different species. *Archivos de Zootecnia*, *70*(269), 14–19. <https://doi.org/10.21071/az.v70i269.5413>
- Blaxter, K. L., Graham, N., & Wainman, F. W. (1956). Some observations on the digestibility of food by sheep and on related problems. *Br. J. Nutr.*, *10*, 69–91.
- Boval, M., Ortega-Jimenez, E., Fanchone, A., & Alexandre, G. (2010). Diet attributes of lactating ewes at pasture using faecal NIRS and relationship to pasture characteristics and milk production. *Journal of Agricultural Science*, *148*(4), 477–485. <https://doi.org/10.1017/S0021859610000298>
- Brogna, N., Palmonari, A., Canestrari, G., Mammi, L., Dal Prà, A., & Formigoni, A. (2018). Technical note: Near infrared reflectance spectroscopy to predict fecal indigestible neutral detergent fiber for dairy cows. *Journal of Dairy Science*, *101*(2), 1234–1239. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13319>
- Cabral, S., Augusto, J., Azevêdo, G., Santos, D., Gustavo, L., Pereira, R., Almeida, F. M. de, Lins, L., & Lima, R. F. de. (2017). *Evaluation of internal markers as determinants*

- of fecal dry matter output and digestibility in feedlot sheep.* 3331–3340. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2017v38n5p3331>
- Castañeda-Serrano, R. D., Piñeros-Varón, R., & Vélez-Giraldo, A. (2018). Foliage of tropical arboreal species in feeding ovines (*Ovis Aries*): Intake, digestibility and balance nitrogen. *Boletín Científico Del Centro de Museos*, 22(1), 58–68. <https://doi.org/10.17151/bccm.2018.22.1.4>
- Church, D. C., Pond, W. G., & Pond, K. R. (2002). *Fundamentos de nutrición y alimentación de animales.*
- Coates, D. B., & Dixon, R. M. (2011). Developing robust faecal near infrared spectroscopy calibrations to predict diet dry matter digestibility in cattle consuming tropical forages. *J. Near Infrared Spectrosc.*, 19, 507–519.
- Coates, D. B., & Penning, P. (2000). *Measuring animal performance* (L. Mannelje & R. M. Jones, Eds.; Mannelje L).
- Coleman, S. W., Christiansen, S., & Shenk, J. S. (1990). Prediction of botanical composition using nIRS calibrations developed from botanically pure samples. *Crop Sci.*, 30, 202.
- Coleman, S. W., Stuth, J. W., & Holloway, J. W. (1989). Monitoring the nutrition of grazing cattle with near-infrared analysis of faeces. *XVI International Grassland Congress, Nice, France*, 881–882.
- Compere, R., Valdivia, J., Hellemans, P., Guns, M., & Vandenbyvang, P. (1992). Comparaison de deux methodes utilisant le Cr2O3 pour estimer la quantite de feces emises par les moutons: pellets de luzerne et bolus CAPTEC-CRD. *Bull. Rech. Agron.*, 27, 365–383.
- Correa, H. J. (2011). *Efecto del manejo del pastoreo y la suplementacion alimenticia en vacas lactantes de sistemas especializados sobre su metabolismo energetico y proteico y el contenido de proteina en la leche.*
- Correa, H. J., Pabon, M. L., & Carulla, J. E. (2009). Estimación del consumo de materia seca en vacas Holstein bajo pastoreo en el trópico alto de Antioquia Estimation of dry matter intake of lactating Holstein cows under grazing in Antioquia Summary. *Livestock Research for Rural Development.*
- Côrtes, C., Damasceno, J. C., Bechet, G., & Prache, s. (2005). Species composition of ryegrass (*Lolium perenne*) and tall fescue (*Festuca arundinacea*) mixtures using various combinations of n-alkanes. *Grass and Forage Science*, 60, 254–261. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2494.2005.00473.x>
- Cottle, D. (2013). The trials and tribulations of estimating the pasture intake of grazing animals. *Animal Production Science*, 53, 1209. <https://doi.org/10.1071/AN13164>

- Cozzolino, D., LaMann, A., & VazMartins, D. (2002). Use of near infrared reflectance spectroscopy to analyze bovine faecal samples. *J. Near Infrared Spectrosc.*, *10*, 309–314. <https://doi.org/doi:10.1255/jnirs.347>
- Davies, A. M., & Grant, A. (1987). Near infra-red analysis of food. *International Journal of Food Science & Technology*, *22*(3), 191–207.
- Davison, C., Bowen, J. M., Michie, C., Rooke, J. A., Jonsson, N., Andonovic, I., Tachtatzis, C., Gilroy, M., & Duthie, C. A. (2021). Predicting feed intake using modelling based on feeding behaviour in finishing beef steers. *Animal*, *15*(7). <https://doi.org/10.1016/j.animal.2021.100231>
- de Souza, J., Batistel, F., Welter, K. C., Silva, M. M., Costa, D. F., & Portela Santos, F. A. (2014). Evaluation of external markers to estimate fecal excretion, intake, and digestibility in dairy cows. *Tropical Animal Health and Production*, *47*(1), 265–268. <https://doi.org/10.1007/s11250-014-0674-6>
- Decruyenaere, V., Buldgen, A., & Stilmant, D. (2009). Factors affecting intake by grazing ruminants and related quantification methods: a review. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, *13*(4), 559–573.
- Decruyenaere, V., Lecomte, P., Demarquilly, C., Aufrere, J., Dardenne, P., Stilmant, D., & Buldgen, A. (2009a). Evaluation of green forage intake and digestibility in ruminants using near infrared reflectance spectroscopy (NIRS): Developing a global calibration. *Animal Feed Science and Technology*, *148*(2–4), 138–156. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2008.03.007>
- Decruyenaere, V., Lecomte, P., Demarquilly, C., Aufrere, J., Dardenne, P., Stilmant, D., & Buldgen, A. (2009b). Evaluation of green forage intake and digestibility in ruminants using near infrared reflectance spectroscopy (NIRS): Developing a global calibration. *Animal Feed Science and Technology*, *148*(2–4), 138–156. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2008.03.007>
- Decruyenaere, V., Peters, M., Stilmant, D., Lecomte, P., & Dardenne, P. (2003). Near infrared reflectance spectroscopy applied to faeces to predict dry matter intake of sheep under grazing, comparison with N-alkanes and direct biomass measurement methods. In H.-C. J. & S.-C. C.A. (Eds.), *Tropical and Subtropical Agroecosystems: The Sixth International Symposium on the Nutrition of Herbivores: matching herbivore nutrition to ecosystems biodiversity* (pp. 471–475). Faculty of Veterinary Medicine & Animal Science Autonomous University of Yucatan, Mexico.
- Decruyenaere, V., Planchon, V., Dardenne, P., & Stilmant, D. (2015). Prediction error and repeatability of near infrared reflectance spectroscopy applied to faeces samples to

- predict voluntary intake and digestibility of forages by ruminants. *Animal Feed Science and Technology*, 205, 49–59. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2015.04.011>
- Decruyenaere, V., Visser, M., Stilmant, D., Clément, C., & Sinnaeve, G. (2004). Faecal near infrared reflectance spectroscopy for ruminant feed intake prediction. *Grass and Forage Science*, 1034, 9.
- Detmann, E., Gionbelli, M. P., & Huhtanen, P. (2014). A meta-analytical evaluation of the regulation of voluntary intake in cattle fed tropical forage-based diets. *Journal Animal Science*, 92, 4632–4641. <https://doi.org/doi:10.2527/jas2014-7717>
- Dixon, R., & Coates, D. (2009). Review: Near infrared spectroscopy of faeces to evaluate the nutrition and physiology of herbivores. In *Journal of Near Infrared Spectroscopy* (Vol. 17, Issue 1, pp. 1–31). <https://doi.org/10.1255/jnirs.822>
- Dixon, R. M., & Coates, D. B. (2005). *The use of faecal NIRS to improve nutritional management of cattle in northern Australia*. 15, 65–76.
- Fanchone, A., Boval, M., & Archimède, H. (2007). *Faecal indices based on near infrared spectroscopy to assess intake, in vivo digestibility and chemical composition of the herbage ingested by sheep*. 113, 107–113. <https://doi.org/10.1255/jnirs.720>
- Faverdin, P., Delagarde, R., Delaby, L., & Meschy, F. (2007). *Alimentation des vaches laitières*. In *Alimentation des Bovins, Ovins et Caprins: Besoins des Animaux-Valeur des Aliments*. Editions Quae, Versailles Cedex, France. 23–57.
- FEDEGAN. (2021). *Coyuntura-Ganadera-Semestre-1-2021*. <https://www.fedegan.org.co/estadisticas/documentos-de-estadistica>
- Ferrell, C. L., Koong, L. J., & Nienaber, J. A. (1986). Effect of previous nutrition on body composition and maintenance energy cost growing lambs. *Br. J. Nutr.*, 56, 595–605.
- Foley, W. J., McLean, S., & Cork, S. J. (1995). Consequences of biotransformation of plant secondary metabolites on acid-base metabolism in mammals- A final common pathway? *J. Chem. Ecol.*, 21, 721–743. <https://doi.org/doi:10.1007/BF02033457>
- Galyean, M. L., & Gunter, S. A. (2016). Predicting forage intake in extensive grazing system. *Animal Science*, 26–43. <https://doi.org/10.2527/jas2016-0523>
- Glindemann, T., Tas, B., Wang, C., Alvers, S., & Susenbeth, A. (2009). Evaluation of titanium dioxide as an inert marker for estimating faecal excretion in grazing sheep. *Animal Feed Science and Technology - ANIM FEED SCI TECH*, 152, 186–197. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2009.04.010>

-
- Goering, H. K., & Van Soest, P. K. (1970). Forage fiber analyses (Apparatus, reagents, procedures, and some applications). In *U.S. Department of Agriculture* (Issue 379). ARS-USDA.
- Gordon I J. (1995). Animal-based techniques for grazing ecology research. *Small Ruminant Research*, 16(3), 203–214. [https://doi.org/10.1016/0921-4488\(95\)00635-X](https://doi.org/10.1016/0921-4488(95)00635-X)
- Gregorini, P., Gunter, S. A., Masino, C. A., & Beck, P. A. (2007). *Effects of ruminal fill on short-term herbage intake rate and grazing dynamics of beef heifers*.
- Holechek, J. L., Vavra, M., & Piepper, R. D. (1982). Botanical composition determination of range herbivores diets: a review. *J. Range Manage*, 35(3), 309–315.
- Holloway, J. W., Estell, I. I. R. E., & Butts Jr., W. T. (1981). Relationships between fecal components and forage consumption and digestibility. *J. Anim. Sci.*, 52, 836–848.
- Illius, A. W., & Jessop, N. S. (1996). Metabolic constraints on voluntary intake in ruminants. *Journal of Animal Science*, 74(12), 3052–3062. <https://doi.org/10.2527/1996.74123052x>
- Jancewicz, L. J., Swift, M. L., Penner, G. B., Beauchemin, K. A., & Koenig, K. M. (2016). Development of NIRS calibrations to estimate fecal composition and nutrient digestibility in beef cattle. *Canadian Journal of Animal Science*, 403, 1–33.
- Jeffery, H. (1976). Effect of the live weight of caged sheep and the amount of feed on offer on estimates of digestibility and ad libitum intake. *Australian Journal of Experimental Agriculture and Animal Husbandry*, 16(82), 656–660.
- Johnson, D. E., Dinusson, W. E., & Bolin, D. W. (1964). Rate of Passage of Chromic Oxide and Composition of Digesta along the Alimentary Tract of Wethers. *Journal of Animal Science*, 23(2), 499–505. <https://doi.org/10.2527/jas1964.232499x>
- Johnson, J. R., Carstens, G. E., Prince, S. D., Ominski, K. H., Wittenberg, K. M., Undi, M., Forbes, T. D. A., Hafila, A. N., Tolleson, D. R., & Basarab, J. A. (2017). Application of fecal near-infrared reflectance spectroscopy profiling for the prediction of diet nutritional characteristics and voluntary intake in beef cattle. *Journal of Animal Science*, 95(1), 447. <https://doi.org/10.2527/jas2016.0845>
- Krämer, M., Weisbjerg, M. R., Lund, P., Jensen, C. S., & Pedersen, M. G. (2012). Estimation of indigestible NDF in forages and concentrates from cell wall composition. *Animal Feed Science and Technology*, 177(1–2), 40–51. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2012.07.027>

- Kyriazakis, I. (2003). *What are ruminant herbivores trying to achieve through their feeding behaviour and food intake*. In: Herrera-Camacho C.A. and Sandoval-Castro J., eds. *Vlth International Symposium on the Nutrition of Herbivores* (pp. 153–173).
- Landau, S., Glasser, T., & Dvash, L. (2006). Monitoring nutrition in small ruminants with the aid of near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) technology: A review. *Small Ruminant Research*, 61(1), 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2004.12.012>
- Landau, S., Glasser, T., Dvash, L., & Perevolotsky, A. (2004). Faecal NIRS to monitor the diet of Mediterranean goats. In *South African Journal of Animal Science* (Vol. 34).
- Landau, S., Glasser, T., Muklada, H., Dvash, L., Perevolotsky, A., Ungar, E. D., & Walker, J. W. (2005). Faecal NIRS prediction of dietary protein percentage and in vitro dry matter digestibility in diets ingested by goats in Mediterranean scrubland. *Small Ruminant Research*, 59(2-3 SPEC. ISS.), 251–263. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2005.05.009>
- Langlands, J. P., Corbett, J. L., McDonald, I., & Reid, G. W. (1963). Estimation of the faeces output of grazing animals from the concentration of chromium sesquioxide in a sample of faeces. *Brit. J. Nutr.*
- Leng, R. A. (1990). Factors affecting the utilization of poor-quality forages by ruminants particularly under tropical conditions. *Nutr. Research Rev.*, 3, 277–303.
- Li, H., Tolleson, D., Stuth, J., Bai, K., Mo, F., & Kronberg, S. (2007). Faecal near infrared reflectance spectroscopy to predict diet quality for sheep. *Small Ruminant Res.*, 68, 263–268.
- Lippke, H. (2002). Estimation of forage intake by ruminants on pasture. *Crop Science*, 42(3), 869-872.
- Lippke, H., Barton II, F. E., & Ocumpaugh, W. R. (1989). Near infrared reflectance spectroscopy for estimation of digestible organic matter intake and body weight gain. *Proceedings of the XVI International Grassland Congress, Nice, France*, 893–894.
- Lippke, H., Ellis, W. C., & Jacobs, B. F. (1986). Recovery of indigestible fiber from feces of sheep and cattle on forage diets. *Journal of Dairy Science*, 69(2), 403–412. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(86\)80418-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(86)80418-0)
- Lobley, G. E., Harris, P. M., Skene, P. A., Brown, D., Milne, E., Calder, A. G., Anderson, S. E., Garlick, P. J., Nevison, I., & Conell, A. (1992). Responses in tissue protein synthesis to sub and supra-maintenance intake in young, growing sheep: Comparison of large-dose and continuous-infusion techniques. *Brit. J. Nutr.*, 68, 373–388.

-
- Lyons, R. K., Stuth, J. W., & Holloway, J. W. (1992). Fecal NIRS equations for predicting diet quality of free-ranging cattle. *J. Range Manage*, *45*, 238–244. <https://doi.org/doi:10.2307/4002970>
- Magalhães, K. A., Valadares Filho, S. C., Detmann, E., Diniz, L. L., Pina, D. S., Azevedo, J. A. G., Araújo, F. L., Marcondes, M. I., Fonseca, M. A., & Tedeschi, L. O. (2010). Evaluation of indirect methods to estimate the nutritional value of tropical feeds for ruminants. *Animal Feed Science and Technology*, *155*(1), 44–54. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2009.10.004>
- Mayes, R. W., & Dove, H. (2000). Measurement of dietary nutrient intake in free-ranging mammalian herbivores. *Nutrition Research Reviews*, *44*.
- Mehtiö, T., Rinne, M., Nyholm, L., Mäntysaari, P., Sairanen, A., Mäntysaari, E. A., Pitkänen, T., & Lidauer, M. H. (2016). Cow-specific diet digestibility predictions based on near-infrared reflectance spectroscopy scans of faecal samples. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, *133*(2), 115–125. <https://doi.org/10.1111/jbg.12183>
- Mejia Diaz, E., Mahecha Ledesma, L., & Angulo Arizala, J. (2017). Consumo de materia seca en un sistema silvopastoril de *Tithonia diversifolia* en trópico alto. *Agronomía Mesoamericana*, *28*(2), 389. <https://doi.org/10.15517/ma.v28i2.23561>
- Mertens, D. R. (2002). Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beakers or crucibles: collaborative study. *J. Assoc. Off. Anal. Chem. Intern*, *85*, 1217–1240.
- Michael Forbes, J. (2007). A personal view of how ruminant animals control their intake and choice of food: Minimal total discomfort. In *Nutrition Research Reviews* (Vol. 20, Issue 2, pp. 132–146). <https://doi.org/10.1017/S0954422407797834>
- Minson, D. (1990). *Forage in ruminant nutrition*. Academic Press Limited. pp 9-58
- Mioto Da Costa, M. C., Ítavo, L. C. V., Ferreira Ítavo, C. C. B., Dias, A. M., Petit, H. v., Reis, F. A., Gomes, R. C., Leal, E. S., Niwa, M. V. G., & de Moraes, G. J. (2019). Evaluation of internal and external markers to estimate faecal output and feed intake in sheep fed fresh forage. *Animal Production Science*, *59*(4), 741–748. <https://doi.org/10.1071/AN16567>
- Moore, J. E. (1994). Forage quality indices: development and application. In *Fahey, Jr. et al. (Ed.) Forage Quality, Evaluation and Utilization*. ASA. CSSA and SSSA., 967–998.
- Moreno, L. A., Rueda, C., & Andrade, G. I. (2018). *Biodiversidad 2017. Estados y tendencias de la biodiversidad continental de Colombia*.

- Morgan, C. A., & Campling, R. C. (1978). Digestibility of whole barley and oat grains by cattle of different ages. *Animal Production*, 27(3), 323–329. <https://doi.org/10.1017/S0003356100036217>
- Nordheim, H., Volden, H., Fystro, G., & Lunnan, T. (2007). Prediction of in situ degradation characteristics of neutral detergent fibre (aNDF) in temperate grasses and red clover using near-infrared reflectance spectroscopy (NIRS). *Animal Feed Science and Technology*, 139(1–2), 92–108. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2006.11.024>
- Norris, K. H., Barnes, R. F., Moore, J. E., & Shenk, J. S. (1976). Predicting forage quality by Near Infrared Reflectance Spectroscopy. *J. Anim. Sci.*, 43, 889–897.
- Núñez-Sánchez, N., Carrion, D., Peña Blanco, F., Domenech García, V., Garzón Sigler, A., & Martínez-Marín, A. L. (2016). Evaluation of botanical and chemical composition of sheep diet by using faecal near infrared spectroscopy. *Animal Feed Science and Technology*, 222, 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2016.09.010>
- Núñez-Sánchez, N., Martínez Marín, A. L., Hernández, M. P., Carrion, D., Castro, G. G., & Pérez Alba, L. M. (2012). Faecal near infrared spectroscopy (NIRS) as a tool to assess rabbit's feed digestibility. *Livestock Science*, 150(1–3), 386–390. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2012.07.030>
- Osborne, B. G., Fearn, P., & Hindle, T. (1993). *Practical NIR Spectroscopy with Applications in Food and Beverage Analysis*. Longman Scientific and Technical. London, UK.
- Oudshoorn, F. W., Cornou, C., Hellwing, A. L. F., Hansen, H. H., Munksgaard, L., Lund, P., & Kristensen, T. (2013). Estimation of grass intake on pasture for dairy cows using tightly and loosely mounted di- and tri-axial accelerometers combined with bite count. *Computers and Electronics in Agriculture*, 99, 227–235. <https://doi.org/10.1016/j.compag.2013.09.013>
- Owens, F. N., & Hanson, C. F. (1992). External and Internal Markers for Appraising Site and Extent of Digestion in Ruminants. *Journal of Dairy Science*, 75(9), 2605–2617. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(92\)78023-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(92)78023-0)
- Ozaki, Y., McClure, W. F., & Christy, A. A. (2007). *Near-Infrared Spectroscopy in Food Science and Technology*, Wiley Interscience, Hoboken, New Jersey, USA.
- Parga, J., Peyraud, J. L., & Delagarde, R. (2002). Age of regrowth affects grass intake and ruminal fermentations in grazing dairy cows. In: Durand J.L., Emile J.C., Huyghe C. and Lemaire G., eds. multi-function grasslands. *Quality Forages, Animal Products and Landscape. Grassl. Sci. Eur.*, 7, 256–257.

- Peguero, A. (2010). *La espectroscopía NIR en la determinación de propiedades físicas y composición química de intermedios de producción y productos acabados*. Universidad Autónoma de Barcelona.
- Peripolli, V., Prates, Ê. R., Barcellos, J. O. J., & Neto, J. B. (2011). Fecal nitrogen to estimate intake and digestibility in grazing ruminants. *Animal Feed Science and Technology*. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2010.11.008>
- Peyraud, J. L., Comerón, E. A., Wade, M. H., & Lemaire, G. (1996). The effect of daily herbage allowance, herbage mass and animal factors upon herbage intake by grazing dairy cows. *Ann. Zootech.*, *45*, 201–217.
- Pfister, J. A., Provenza, F. D., Manners, G. D., Gardner, D. R., & Ralphs, M. H. (1997). Tall larkspur ingestion: Can cattle regulate intake below toxic levels? *J. Chem. Ecol.*, *23*, 759–777. <https://doi.org/doi:10.1023/B:JOEC.0000006409.20279.59>
- Provenza, F. D., Villalba, J. J., & Dziba, L. E. (2003). Linking herbivore experience, varied diets, and plant biochemical diversity. *Small Ruminant Research*, *49*, 257–274.
- Pulina, G., Avondo, M., Molle, G., Dias Francesconi, A. H., Atzori, A. S., & Cannas, A. (2013). *Invited Review Models for estimating feed intake in small ruminants*.
- Raymond, W. F., Harris, C. E., & Haurker, 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.
- Raymond, W. F., Harris, C. E., & Kemp, C. D. (1955). Studies in the digestibility of herbage. VI. The effect of level of herbage intake on the digestibility of herbage by sheep. *J. Brit. Grassl. Soc.*, *10*, 19–26.
- Rhind, S. M., Archer, Z. A., & Adam, C. L. (2002). Seasonality of food intake in ruminants: recent developments in understanding. *Nutr. Research Rev.*, *15*, 43–65.
- Rihani, N., Garrett, W. N., & Zinn, R. A. (1993). Influence of level of urea, and method of supplementation on characteristics of digestion of high-fiber diets by sheep. *Journal Animal Science*, *71*, 1657–1665.
- Rombach, M., Münger, A., Niederhauser, J., Südekum, K.-H., & Schori, F. (2018). Evaluation and validation of an automatic jaw movement recorder (RumiWatch) on unsupplemented or supplemented dairy cows on pasture. *J. Dairy Sci.*, *101*, 2463–2475.

- Romney, D. L., & Gill, M. (2009). Intake of forages. In *Forage evaluation in ruminant nutrition*. (Issue 1996, pp. 43–62). <https://doi.org/10.1079/9780851993447.0043>
- Ruuska, S., Kajava, S., Mughal, M., Zehner, N., & Mononen, J. (2016). Validation of a pressure sensor-based system for measuring eating, rumination and drinking behaviour of dairy cattle. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, *174*, 19–23.
- Sampaio, C. B., Detmann, E., Neves, T., & Valente, P. (2011). Fecal excretion patterns and short-term bias of internal and external markers in a digestion assay with cattle. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 657–665.
- Selcuk, A., & Suphi, D. (2017). Use of Chromium Oxide and Alkane Indicator Methods for Determination of Feed Intake for Grazing Sheep. *Journal of Agricultural Science and Technology A*, *7*(3). <https://doi.org/10.17265/2161-6256/2017.03.008>
- Shenk, J. S., & Westerhaus, M. O. (1994). *THE APPLICATION OF NEAR INFRARED REFLECTANCE SPECTROSCOPY (NIRS) TO FORAGE ANALYSIS*.
- Shenk, J. S., & Westerhaus, M. O. (1996). Calibration de ISI way. En *Near Infrared Spectroscopy: the future waves*. In W. P. Davies A.M.C. (Ed.), *NIR publications*.
- Shenk, J. S., & Westrehaus, M. O. (1991). Population definition, sample selection, and calibration procedures for near-infrared reflectance spectroscopy. *Crop Sci.*, *31*, 469–474.
- Shenk, J. S., Workman, J. J., & Westerhaus, M. O. (2001). *Application of NIR Spectroscopy to Agricultural Products. Handbook of Near Infrared Analysis. Second Edition*. Burns D.A. y Ciurczak E.W. (Eds.). *Practical Spectroscopy Series, Vol. 27*. Marcel Dekker, USA.
- Showers, E. E. (1997). *Prediction of Diet Quality Parameters of White-tailed Deer Via Near Infrared Reflectance Spectroscopy (NIRS) Fecal Profiling*. Texas A&M University.
- Smit, H. J., Taweel, H. Z., Tas, B. M., Tamminga, S., & Elgersma, A. (2005). Comparison of Techniques for Estimating Herbage. *Journal of Dairy Science*, *88*(5), 1827–1836. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(05\)72857-5](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(05)72857-5)
- Soto-Navarro, S. A., Lancaster, R., Sankey, C., Capitan, B. M., & Holland, B. P. (2014). *Comparative digestibility by cattle versus sheep: Effect of forage quality*. <https://doi.org/10.2527/jas2013-6740>
- Stuth, J. W., Kapes, E. D., & Lyons, R. K. (1989). Use of near infrared spectroscopy to assess nutritional status of cattle diets on rangeland. *XVI International Grassland Congress, Nice, France*, 889–890.

- UPRA. (2020). *Plan de ordenamiento productivo: Analisis prospectivo de la cadena lactea bovina colombiana*.
- UPRA. (2021). *Analisis situacional de la cadena productiva carnica bovina*.
- Valentine, M. E., Karayilanli, E., Cherney, J. H., & Cherney, D. J. (2019). Comparison of in vitro long digestion methods and digestion rates for diverse forages. *Crop Science*, 59(1), 422–435. <https://doi.org/10.2135/cropsci2018.03.0159>
- 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. *J. Dairy Sci.*, 74, 3583–3597.
- Van Wieren, S. E. (1996a). Do large herbivores select a diet that maximizes short-term energy intake rate? *Forest Ecol. Manage*, 88, 149–156.
- Van Wieren, S. E. (1996b). Do large herbivores select a diet that maximizes short-term energy intake rate? *Forest Ecol. Manage.*, 88, 149–156.
- Velásquez, A. v, da Silva, G. G., Sousa, D. O., Oliveira, C. A., Martins, C. M. M. R., dos Santos, P. P. M., Balieiro, J. C. C., Rennó, F. P., & Fukushima, R. S. (2018). Evaluating internal and external markers versus fecal sampling procedure interactions when estimating intake in dairy cows consuming a corn silage-based diet. *Journal of Dairy Science*, 101(7), 5890–5901. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13283>
- Ward, R. G., Smith, G. S., Wallace, J. D., Urquhart, N. S., & Shenk, J. S. (1982). Estimation of intake and quality of grazed range forage by near infrared reflectance spectroscopy. *J. Anim. Sci.*, 54, 399–402.
- Williams, P. C. (2001). Implementation of Near- Infrared Technology. En *Near-Infrared Technology in the Agricultural and Food Industries*, 2nd edition. In *American Association of Cereal Chemists, Inc.* (P.K. Willi).
- Williams, P., Dardenne, P., & Flinn, P. (2017). Tutorial: Items to be included in a report on a near infrared spectroscopy project. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, 25(2). <https://doi.org/10.1177/0967033517702395>
- Workman, J. J., & Mark, H. (2015). Choosing the Best Regression Model. *J. Near Infrared Spectrosc.*, 30(6).
- Yearsley, J., Tolkamp, B. J. N., & Illius, A. W. (2001). Theoretical developments in the study and prediction of food intake. *Proc. Nutr. Soc.*, 60, 145–156.