



UADY
UNIVERSIDAD
AUTÓNOMA
DE YUCATÁN

**COORDINACIÓN GENERAL
DEL SISTEMA DE POSGRADO,
INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN**

POSGRADO INSTITUCIONAL EN CIENCIAS
AGROPECUARIAS Y MANEJO DE RECURSOS
NATURALES TROPICALES

Evaluación de una Cámara Multiespectral para Estimar la Composición Química de Gramíneas Tropicales

TESIS

PRESENTADA COMO REQUISITO

PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS AGROPECUARIAS

POR

Zootecnista Julián Arroyave Jaramillo

Directores:

Dr. Luis Antonio Chel Guerrero

Dr. David Betancur Ancona



POSGRADO INSTITUCIONAL
CIENCIAS AGROPECUARIAS Y MANEJO
DE RECURSOS NATURALES TROPICALES

Mérida, Yuc., México, noviembre de 2019



UADY
UNIVERSIDAD
AUTÓNOMA
DE YUCATÁN

**COORDINACIÓN GENERAL
DEL SISTEMA DE POSGRADO,
INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN**

POSGRADO INSTITUCIONAL EN CIENCIAS
AGROPECUARIAS Y MANEJO DE RECURSOS
NATURALES TROPICALES

**ALUMNO : ZOOTECNISTA
JULIAN ARROYAVE JARAMILLO**

SÍNODO DEL EXAMEN DE TESIS DE GRADO

**DR. HÉCTOR FELIPE MAGAÑA SEVILLA
ITA-CONKAL**

**DR. FRANCISCO JAVIER SOLORIO SÁNCHEZ
CCBA-UADY**

**DR. DAVID MUÑOZ RODRÍGUEZ
FIQ-UADY**

**DR. JUAN CARLOS PÉREZ NARANJO
UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA**

**DR. EDUARDO CASTAÑEDA PÉREZ
FIQ-UADY**

**DR. LUIS SARMIENTO FRANCO
CCBA-UADY**

MÉRIDA, YUCATÁN, NOVIEMBRE DEL 2019

Campus de Ciencias Biológicas y Agropecuarias
Km. 15.5 carretera a Xmatkuil | Teléfonos: 942 32 00, 02 y 04
Mérida, Yucatán, México | www.uady.mx

Declaratoria de originalidad

El presente trabajo no ha sido aceptado o empleado para el otorgamiento de título o grado diferente o adicional al actual. La tesis es resultado de las investigaciones del autor, excepto donde se indican las fuentes de información consultadas. El autor otorga su consentimiento a la UADY para la reproducción del documento con el fin del intercambio bibliotecario siempre y cuando se indique la fuente.

(Dedicatoria)

A mi familia por el apoyo moral y económico durante mi formación, a mis amigos de GPM por incentivar me a seguir adelante a pesar de los problemas y al Profesor Juan Carlos Pérez Naranjo por ser una inspiración para seguir en el camino de la ciencia.

“El carácter no puede ser desarrollado en tranquilidad y quietud. Sólo a través de la experiencia, las pruebas y el sufrimiento el alma puede ser fortalecida, la ambición inspirada, y el éxito alcanzado.”

Helen Keller.

Agradecimientos

Doy mis más sinceros agradecimientos en primera instancia Dios y a todas aquellas personas e instituciones que permitieron alcanzar todas las metas de mi investigación.

Al Profesor **Luis Alfonso Giraldo Valderrama**, por facilitar las instalaciones del laboratorio BIORUM para la determinación de la composición Química de los Forrajes.

A Camilo, Frack, Walter y Alejandra por la ayuda en el establecimiento de las parcelas demostrativas de forrajes en la estación agraria COTOVÈ.

Al Ing. MSc **Daniel Mauricio Pineda Tobón** por la ayuda en la construcción de la cámara AFT.

Al Profesor **Juan Carlos Pérez Naranjo** por el préstamo de las instalaciones del Laboratorio de Microbiología de Suelos y la asesoría en el análisis de imágenes.

AL Dr. **Juan Carlos Ku Vera** por darme la oportunidad de estar en el laboratorio de Ganadería y Cambio Climático (LACCLIGA) durante el desarrollo de esta investigación.

A la Familia **Escobar García** Por el apoyo durante mi estancia en México.

Al **CONACYT** por el apoyo económico parcial durante la maestría.

A la **Gobernación de Antioquia (Colombia)**, por el apoyo parcial en el mejoramiento de prototipos usados en las pruebas finales, a través del convenio No. 4600007658-779 Secretaria de Agricultura y Desarrollo Rural de Antioquia, Colciencias y universidad Nacional de Colombia Sede Medellín.

A mis asesores por toda la dedicación y paciencia que me tuvieron durante este proceso.

A todos los profesores del posgrado institucional en ciencias agropecuarias por el aporte que realizaron en mi formación

Resumen

En este estudio se probó el desempeño inicial de un dispositivo de espectroscopia de imágenes, en adelante denominado cámara de Análisis de Forrajes Tropicales (AFT), para estimar propiedades químicas de 6 especies de gramíneas tropicales. Se utilizaron 332 muestras (39 de *Megathyrsus maximus* y 293 de cinco especies de *Bracharia*). Todas las muestras fueron analizadas mediante procedimientos estándar de química analítica como métodos de referencia y se utilizó la cámara AFT para obtener 17 imágenes de reflexión en bandas de luz que van desde el espectro visible hasta el infrarrojo cercano. El 90% de las muestras de cada especie fue utilizado para desarrollar modelos de regresión multivariados entre los valores de química húmeda y las lecturas de la cámara AFT con el fin de obtener modelos matemáticos para la estimación de los contenidos de proteína cruda, fibra detergente neutro, fibra detergente ácida, lignina, ceniza y degradación in vitro de la materia seca. Estos modelos se validaron con el 10% de muestras restantes. Los análisis indicaron un grado de asociación intermedioalto ($R^2 > 0.35$) entre los valores de química analítica en las muestras y las lecturas de la cámara AFT. Los coeficientes de correlación de predicción presentaron una alta variabilidad entre especies, sin embargo, no se observó diferencia estadística entre los valores de las distintas fracciones químicas estimados con la cámara AFT y las metodologías de referencia (valor $p > 0.05$) en el 97% de las muestras. La cámara AFT muestra un gran potencial para la estimación de propiedades químicas en las especies *Brachiaria* y *Megathyrsus* y su implementación reduciría sustancialmente el tiempo y costo de los análisis de composición química de forrajes.

Palabras clave: espectroscopia, Composición química, gramíneas

Abstract

This study tested the initial performance of an image spectroscopy device hereinafter referred to as the Tropical Forage Analysis (AFT) chamber, to estimate chemical properties of six species of tropical grasses. Three hundred and thirty-two samples (39 of *Megathyrus maximus* and 293 of five *Bracharia* species) were used. All samples were analyzed by standard chemistry procedures as reference methods and the AFT camera was used to obtain 17 images of the light reflection at wavelengths that travel the visible and near infrared spectrum. 90% of the samples of each species was used to develop multivariate regression models between the values of wet chemistry and the AFT chamber readings. The remaining 10% samples was further used to estimate values of crude protein, neutral detergent fiber, acid detergent fiber, lignin, ash and in vitro degradation of dry matter. Sample chemistry showed a high to medium association ($R^2 > 0.35$) between analytical chemistry values and AFT chamber readings. The prediction correlation coefficients showed high variability between species, however, no statistical difference was observed between the values of the different chemical fractions estimated with the AFT chamber and the reference wet chemistry methods ($p \text{ value} > 0.05$) in 97% of the samples. The ATF chamber shows great potential for estimating chemical properties in the *Brachiararia* and *Megathyrus* species, and its perfection and adoption would greatly cut both time and cost of forage sample analysis.

Keywords: spectroscopy, chemical composition, grasses

Contenido

	Pág.
Votos aprobatorios del sínodo.....	¡Error! Marcador no definido.
Declaratoria de originalidad.....	III
Agradecimientos.....	VII
Resumen.....	IX
Abstract.....	X
Lista de figuras.....	XII
Lista de tablas.....	XIII
Introducción.....	15
1. Revisión de Literatura.....	17
1.1 Metodologías de química húmeda.....	17
1.1.1 Proteína Cruda.....	17
1.1.2 Fibra y Lignina.....	19
1.1.3 Cenizas.....	20
1.1.4 Extracto Etéreo.....	21
1.2 Análisis Químicos de Superficie por espectroscopia.....	21
1.2.1 Análisis multivariados utilizados en los métodos espectrofotométricos.....	25
1.3 Análisis de imágenes multiespectrales.....	28
1.3.1 Cámara AFT.....	28
2. Hipótesis y Objetivos.....	33
2.1 Hipótesis.....	33
2.2 Objetivos.....	33
2.2.1 Objetivo General.....	33
2.2.2 Objetivos específicos.....	33
3. Bibliografía.....	35
4. Artículo científico.....	39
5. Conclusiones.....	76
Anexo 1: Rutina de R utilizada para la obtención de los modelos de predicción para el caso de este trabajo.....	77
Anexo 2: Base de datos de la composición química de <i>B. ruzizensis</i> realizada durante este estudio.....	80
Anexo 3: Base de datos de los valores de gris de <i>B. ruzizensis</i> en estudio.....	81

Lista de figuras

Figura 1. Pasos del método Kjeldahl para determinar el contenido de nitrógeno orgánico en diversas matrices. Modificado de ITW Reagent (2019).	18
Figura 2. Sistema Dumas para la estimación del nitrógeno total. OIV-MA-AS323-02 ^a (2009).....	19
Figura 3. Equipo SPAD-501 de Minolta®, utilizado para la estimación del contenido de clorofila y nitrógeno total en plantas de interés comercial. Spectrum Tecnologías, Inc. (2019)	23
Figura 4. FieldScout CM 1,000 NDVI de Spectrum Technology®, para la estimación de propiedades químicas en plantas. Spectrum Tecnologías, Inc.2. (2019).....	24
Figura 5. Apariencia general de la cámara AFT.....	29
Figura 6. Componentes de la cámara AFT Pineda (2017).	30
Figura 7. Principio óptico de la reflexión difusa (Orozco. E, 2009)	31

Lista de tablas

Tabla 1. Fuentes de luz LED usadas en el sistema de imágenes multiespectrales.....	29
---	----

Introducción

Se espera que para el 2050 la población humana incremente en un tercio con respecto a la población del 2009, es decir un aumento cercano a los 2300 millones de personas (Godfray et al., 2010). Este crecimiento demográfico generará una mayor demanda de alimentos, la cual se espera que aumente en más de un 40% en los próximos 15 años (Thornton, 2010). Sin embargo, a pesar de la necesidad de producir más alimentos para una población creciente, actualmente se observa una reducción vertiginosa en el número de granjas dedicadas a la producción agropecuaria (comisión Europea, 2017), debido posiblemente a la movilización de la población rural hacia las grandes ciudades, poca rentabilidad de los sistemas de producción agropecuarios, cambios en el patrón climático que dificultan la producción, o la utilización de tierras agrícolas para la expansión urbana.

De lo anterior se puede concluir que la mejor forma para suplir la necesidad de alimentos de la población en los próximos años, será la intensificación masiva de los sistemas de producción agropecuarios, lo que generará la necesidad de concentrar un gran número de animales (miles o millones) en pequeños espacios (Pedersen, 2005), que requerirán de un monitoreo constante y en tiempo real de variables relacionadas con su fisiología, etología, estatus nutricional y reproductivo (Banhazi and Black, 2009; Van Hertem et al., 2017).

La incorporación de herramientas tecnológicas a la producción animal conlleva al desarrollo del concepto de ganadería de precisión, el cual se podría definir como la aplicación de los sistemas de información y la tecnología electrónica para el monitoreo en tiempo real y manejo de los animales (Wathes et al., 2008).

Un alto porcentaje de las herramientas de tecnología de vanguardia disponibles en la ganadería fueron desarrolladoras para sistemas de producción de climas templados donde las condiciones ambientales y sistemas de alimentación, especialmente en la producción de leche y carne con bovinos, presentan grandes diferencias con las condiciones que se tienen en los países ubicados en la región tropical, lo cual sumado al costo de las mismas limitan su utilización masiva en el trópico.

La producción de leche y carne con bovinos en los países tropicales depende en un alto porcentaje de los recursos forrajeros (gramíneas, leguminosas, etc.) para alimentar a los animales (Skerman, 1977; Pfister and Malechek, 1986), por lo cual durante muchos años

se ha buscado mejorar su calidad nutricional y estrategias que maximicen el consumo de estos bajo condiciones de pastoreo (Pfister and Malechek, 1986; Casler and Vogel, 1999).

Los análisis bromatológicos o de composición química y las distintas técnicas para estimar la degradación ruminal del material vegetal, son tal vez las principales herramientas de las que se dispone actualmente para estudiar la calidad nutricional de forrajes y gramíneas.

Es importante mencionar que en muchos casos la poca disponibilidad de laboratorios cercanos a los centros de producción, los elevados costos de los análisis bromatológicos, el tiempo que se requiere para procesar las muestras y poca competencia técnica del personal de granja para la interpretación de los resultados, limitan el uso masivo de estos análisis en los centros de producción ganaderos.

Con el fin de hacer más eficiente el proceso de estimación de la composición química de forrajes y gramíneas, actualmente se han desarrollado sistemas ópticos para hacer análisis químicos de superficie que permitan estimar de forma rápida, precisa y económica variables de interés en la nutrición de rumiantes (Tran et al., 2010). Sin embargo, los elevados costos de estos equipos asociados a la operación y calibración, limitan su utilización masiva en centros de producción pecuarios. Por lo que se hace necesario el desarrollo de herramientas de bajo costo y fácil operación que mediante el análisis de imágenes permitan estimar de forma rápida y precisa propiedades químicas de interés en la nutrición de rumiantes.

El objetivo de este trabajo fue estimar la composición química de 6 especies de gramíneas tropicales con la utilización de un dispositivo de análisis espectroscópico denominado cámara de análisis de forrajes tropicales (AFT), el cual fue desarrollado por investigadores de la Universidad Nacional de Colombia. Actualmente no se tienen reportes de un sistema similar utilizado para la estimación de propiedades químicas en forrajes tropicales por lo que poner esta herramienta al alcance de los productores de leche y carne con rumiantes en el trópico es la principal contribución de este trabajo.

1. Revisión de Literatura

Los compuestos que tradicionalmente se utilizan para evaluar la composición química de materias primas destinadas a la nutrición de rumiantes son el contenido de proteína cruda (PC), fibra detergente neutro (FDN), fibra detergente ácido (FDA), lignina, cenizas y extracto etéreo (EE). Variables que se determinan por métodos analíticos de referencia en gramíneas tropicales (Van Soest et al., 1991).

En la actualidad existen múltiples técnicas para estimar el contenido de fracciones químicas en alimentos, que van desde metodologías de química húmeda tradicionales hasta análisis químicos de superficie o análisis de espectroscopía, que en sus versiones más avanzadas usan imágenes tomadas en distintas longitudes de onda para crear modelos que estiman la composición química de múltiples matrices (Tran et al., 2010).

Cada uno de esos métodos está bien soportado por principios físico-químicos como la vibración de moléculas a longitudes de onda específicas la cual hace que se absorba o refleje más luz dependiendo de la composición química.

1.1 Metodologías de química húmeda

1.1.1 Proteína Cruda

▪ Método Kjeldahl

El método Kjeldahl para determinar el contenido de nitrógeno en diversas matrices desarrollado por Johan Kjeldahl en 1883 se encuentra descrito por el método 954.01 de la AOAC 2006.

La metodología está dividida en 3 etapas, la cual es aplicable a todas las muestras independientemente de su naturaleza, siempre y cuando contengan nitrógeno orgánico.

En la primera etapa conocida como digestión, se convierte todo el nitrógeno orgánico en ion amonio, para lo cual se realiza una digestión ácida entre 450 y 500°C, en presencia de sulfato de cobre II el cual actúa como catalizador.

La segunda etapa es la destilación, en la cual el amoníaco se separa por arrastre vapor, durante este procedimiento se adiciona hidróxido de sodio (NaOH) a la dilución de amonio, con el fin de generar amoníaco (NH_3) y vapor de agua que arrastra al mismo; la solubilización posterior en una solución ácida generalmente compuesta por ácido bórico, (esta solución se puede elaborar a partir de ácido sulfúrico o clorhídrico con el fin de formar iones solvatados) permite la conversión del NH_3 al catión amonio (NH_4) el cual se mantiene estable por el medio ácido.

La última etapa consiste en una titulación con ácido sulfúrico al 0.1 N del amoníaco disuelto, el cual es proporcional a la cantidad de nitrógeno presente en la muestra inicial (figura 1) (AOAC., 2006).

Finalmente, para estimar la cantidad de proteína cruda del alimento en estudio, se multiplica el contenido de nitrógeno por el factor 6.25, que asume que todas las proteínas contienen el 16% de nitrógeno.

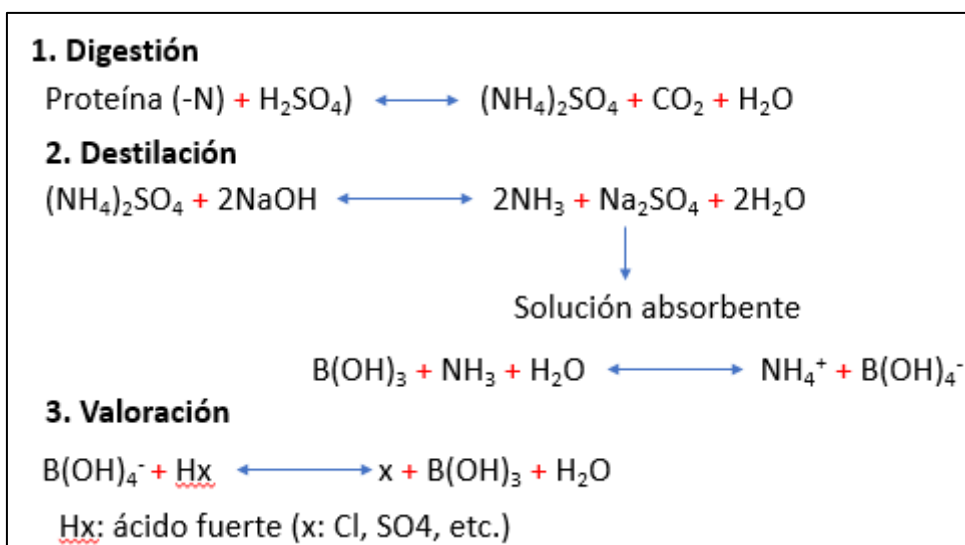


Figura 1. Pasos del método Kjeldahl para determinar el contenido de nitrógeno orgánico en diversas matrices. Modificado de ITW Reagent (2019).

▪ Método Dumas

Es un método alternativo para estimación del contenido de nitrógeno total (orgánico e inorgánico) el cual consiste en una pirólisis completa de la muestra para la determinación del contenido de nitrógeno en los gases de combustión, es decir consiste en analizar los gases resultantes de quemar las muestras a altas temperaturas en una atmósfera rica en

oxígeno. Los gases resultantes pueden ser medidos con manómetros después de absorber el CO₂ en una solución alcalina o por conductividad térmica en métodos automatizados (figura 2) (Gerhardt., 2009).

El protocolo para determinación del nitrógeno con el método dumas se encuentra descrito por los métodos 979.09 y 920.87 de la AOAC (2006).

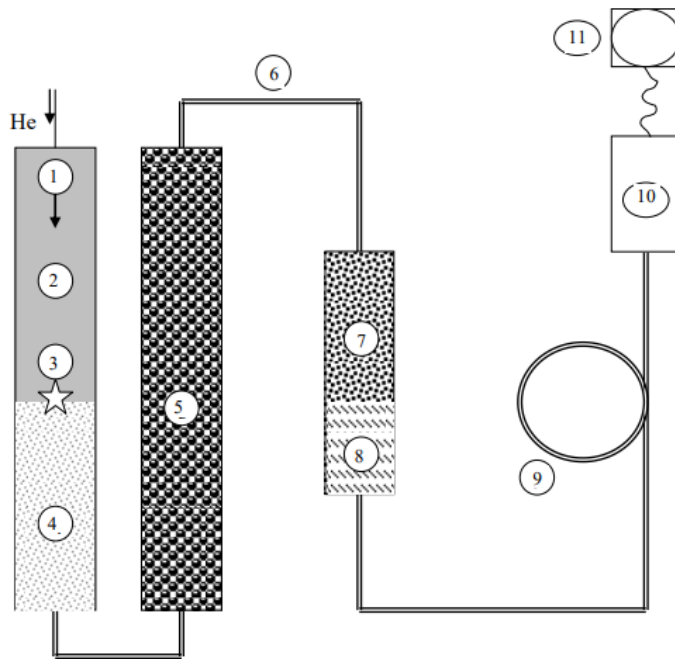


Figura 2. Sistema Dumas para la estimación del nitrógeno total. OIV-MA-AS323-02^a (2009).

1. Inyección de la muestra y oxígeno en el tubo de combustión - 2 y 3 combustión de la muestra - 4 reducción de los óxidos de nitrógeno a N₂ - 5 trampa para compuestos azufrados y excesos de oxígeno - 6 , 7 y 8 trampa para elementos no cuantificados (CO₂, He) y humedad, 9 separación cromatográfica , 10 detección , 11 señal y procesamiento de datos.

1.1.2 Fibra y Lignina

La estimación de los componentes de la pared celular en gramíneas se realiza siguiendo la metodología secuencial descrita por Van Soest et al., (1991).

En primera instancia se realiza un lavado de la muestra seca y molida a un tamaño de criba de 1mm a 100°C, con un detergente neutro a base de lauril sulfato de sodio y EDTA disódica en presencia de un α -amilasa termoestable; con este lavado se elimina todo el contenido celular y almidón (por acción de la α -amilasa) que puedan contener las muestras, quedando solamente los componentes de la pared celular celulosa,

hemicelulosa, lignina y cutinas, fracciones a las que se denomina la fibra detergente neutra (FDN) (Van Soest et al., 1991; VAN SOEST, 1994).

Al residuo obtenido después de estimar la FDN, se somete a un lavado con un detergente ácido a base de bromuro de cetiltrimetilamonio (CTAB) y ácido sulfúrico, con el cual se logra eliminar la hemicelulosa de la pared celular, quedando en el residuo solo celulosa, lignina y cutinas a lo cual se le denomina fibra detergente ácida (FDA) (Van Soest et al., 1991; VAN SOEST, 1994).

El material resultante de la FDA se somete a una digestión ácida generalmente con ácido sulfúrico concentrado, con lo que se logra la solubilización de la celulosa dejando en el residuo la lignina y cutinas, fracción que se conoce como el porcentaje de lignina debido a que el contenido de cutinas es casi despreciable en los forrajes especialmente en gramíneas tropicales (Van Soest et al., 1991).

Finalmente todos los valores encontrados con esta técnica son expresados como porcentaje de la materia seca de la muestra en estudio.

Es importante mencionar que el sistema de análisis de Van Soest et al., (1991) se diseñó para analizar las fracciones de carbohidratos de forrajes especialmente gramíneas, por lo cual tiene limitaciones en el análisis de otros alimentos, particularmente en los subproductos de origen animal y en pastas de oleaginosas (Fox et al., 2000).

1.1.3 Cenizas

El contenido de cenizas en una muestra de forraje es equivalente a la fracción de la materia seca que son minerales, es decir compuestos inorgánicos (que no contienen carbono) (Hoffman, 2005).

El método de cuantificación se encuentra establecido por la AOAC, 2006 (método 942.05), el cual consiste en la incineración directa de la muestra a 600°C durante dos horas, con lo que se logra eliminar cualquier compuesto que contenga carbono, queda solo la fracción de minerales, la cual después de ser pesada se expresa como porcentaje de la materia seca.

El procedimiento es bastante preciso. Sin embargo, es importante mencionar que con ésta metodología se estima el contenido total de minerales y no se puede determinar el contenido exacto de un mineral específico. No obstante, el residuo obtenido puede utilizarse para estimar la concentración de minerales como calcio y fósforo mediante métodos colorimétricos o espectrofotométricos (Adesoganl et al., 2000).

1.1.4 Extracto Etéreo

El extracto etéreo en el análisis químico de forrajes corresponde a la fracción lipídica de la materia seca, la cual se estima generalmente siguiendo el método Soxhlet (Herrera et al., 1979).

Este método consiste en la extracción continua mediante calor de todas las sustancias solubles en éter de petróleo. Para ello se somete a las muestras de forraje seco y molido a un lavado continuo con un solvente orgánico, generalmente éter de petróleo a 100°C, con el fin de solubilizar todos aquellos compuestos lipofílicos. Finalmente, por diferencia de peso entre la muestra inicial y el residuo se obtiene el porcentaje de grasa, el cual generalmente se expresa como porcentaje de materia seca (AOAC, 2006, método 942.05).

1.2 Análisis Químicos de Superficie por espectroscopia

El alto desempeño de los sistemas ópticos para estimar propiedades químicas en distintas matrices está bien documentado desde hace décadas (Slater, 1980), lo que llevó a un perfeccionamiento de estas técnicas año con año y donde se fueron integrando distintas ramas del conocimiento como la electrónica para lograr el desarrollo actual, donde se disponen de un sin número de equipos ópticos para la estimación de propiedades químicas en distintas matrices (Jiang, 2016).

En general, esas técnicas detectan patrones de interacción entre una muestra de interés y una fuente de luz. Para su implementación como técnica de análisis químico foliar generalmente se sigue esta rutina: 1) Se miden las concentraciones de nutrientes en muestras foliares usando métodos químicos estándar. 2) En una submuestra se determinan propiedades ópticas, que se presentan como valores de absorción, reflexión o transmisión de bandas de luz, según la configuración del instrumento usado. 3) Con las medidas de las propiedades ópticas obtenidas en el segundo paso y las concentraciones de nutrientes obtenidas en el primer paso se construyen modelos estadísticos. 4) Con el instrumento usado en el segundo paso, calibrado con modelos estadísticos suficientemente confiables se calculan las concentraciones de nutrientes en las nuevas muestras (Hoffmann et al., 2017).

A nivel mundial, se presume que la espectroscopia del infrarrojo cercano (NIRS por sus siglas en inglés) es la técnica más común para realizar análisis químicos de superficie, el cual basado en la absorción y reflexión de luz por distintas matrices en el infrarrojo cercano (700 a 2500nm), permite la creación de modelos estadísticos para la predicción de distintos componentes químicos en alimentos, medicamentos, etc.(Dreassi et al., 1995; van Kempen and Bodin, 1998; Cozzolino and Moron, 2004; Hoffmann et al., 2017).

Para muestras de forrajes (silos, gramíneas, leguminosas, etc.) se han desarrollado exitosamente ecuaciones de predicción de composición química usando el equipo NIRS, es así como múltiples autores reportan un alto grado de correlación ($R^2 > 0.8$) entre los contenidos de PC, cenizas, FDN, FDA, Lignina, degradación in-vitro de la materia seca (DIVMS), ácidos grasos volátiles (AGVS), extracto etéreo, etc. estimados por metodologías tradicionales de química húmeda y los obtenidos por la metodología NIRS (Marten et al., 1983; Decruyenaere et al., 2009; Andueza et al., 2017; Hetta et al., 2017). Sin embargo, es importante resaltar que no solo se dispone del NIRS para estos análisis; existen múltiples equipos los cuales se basan en principios ópticos para determinar propiedades químicas de interés en distintas matrices como hojas de plantas y granos.

Los medidores de clorofila portátiles conocidos comúnmente como SPAD, son usados ampliamente en la agricultura para identificar deficiencias de nitrógeno en cultivos comerciales de gran escala (Figura 3) (Blackmer and Schepers, 1994; Scharf, 2001; Xiong et al., 2015).

En estos equipos dos haz de luz (uno a 650 y otro a 940 nm) se ponen directamente sobre la superficie de las hojas y se basan en el principio de que parte de la luz emitida es absorbida por la clorofila y el resto es reflejada y captada por un sensor de luz, el cual la convierte en un señal eléctrica fácilmente cuantificable en valores adimensionales que van desde 0 a 199, la cantidad de luz captada es inversamente proporcional a la cantidad de luz usada por la clorofila, es decir, entre más luz absorban las hojas (es más verde) menor será la cantidad de luz que es cuantificada por el equipo y por ende mayor será cantidad de clorofila presente en las hojas (Fox et al., 1994; Sánchez et al., 2017).

Se presume que aproximadamente el 80% del nitrógeno presente en las hojas se aloja en los cloroplastos y del 0.5 – 1.5 % del nitrógeno total se encuentra asociado a la clorofila

(Xiong et al., 2015), dicha información ha servido como base para realizar modelos de calibración que permitan asociar el contenido de clorofila con el contenido total de nitrógeno de las plantas.

El equipo SPAD-501 de Minolta® ha sido utilizado con éxito para determinar el contenido de clorofila y nitrógeno total en leguminosas, gramíneas, frutales y hortalizas, presentando correlaciones altas entre las metodologías tradicionales y las lecturas con este equipo (Reeves et al., 1993).

Posteriormente el modelo SPAD 502 Minolta® fue calibrado exitosamente para estimar el contenido de nitrógeno en plantas de arroz (Turner and Jund, 1991), maíz (Krugh et al., 1994), trigo (Follett et al., 1992), pasto festuca (*Festuca arundinacea*) (Kantety et al., 1996), algodón (Wood et al., 1992), arroz (Peng et al., 1996) y plantas de tomate (Rodríguez Mendoza et al., 1998).

Si bien el equipo SPAD fue construido inicialmente para estimar el contenido de clorofila y nitrógeno en plantas, se han desarrollado algunas investigaciones para relacionar las lecturas obtenidas con el SPAD y algunas propiedades químicas de las plantas que son de interés en la nutrición de rumiantes. Hungues et al., 2017, relacionan las mediciones SPAD con la concentración de compuestos químicos asociados a la pared celular de gramíneas tropicales y la degradación *in-vitro* de la materia orgánica (DIVMO), encontrando que para las especies *B. hybridus*, *M. maximus* y *P. atratum* los coeficientes de determinación (R^2) están entre 0.08 y 0.34 para las estimaciones del contenido FDA, entre 0.14 y 0.31 para FDN y entre 0.23 y 0.65 para la digestibilidad *in-vitro* de la materia orgánica (Hughes et al., 2017).



Figura 3. Equipo SPAD-501 de Minolta®, utilizado para la estimación del contenido de clorofila y nitrógeno total en plantas de interés comercial. Spectrum Tecnologías, Inc. (2019)

El equipo FieldScout CM 1,000 NDVI desarrollado por Spectrum Technology[®], funciona de forma similar al SPAD de Minolta[®]. Sin embargo, este dispositivo utiliza longitudes de onda de 680 y 840 nm para estimar el contenido de clorofila y nitrógeno (Figura 4).

Este equipo, ha sido utilizado con éxito para predecir el contenido de nitrógeno en plantaciones de frutales permanentes como cultivos de manzanas, donde se pudo establecer un coeficiente de correlación de 0.84 entre las mediciones realizadas con información obtenida de imágenes satelitales para determinar el estado nutricional de las plantas y las lecturas del FieldScout CM 1,000 NDVI (Perry and Davenport, 2007).

Al igual que el equipo SPAD, se han relacionado las lecturas del FieldScout CM 1,000 NDVI con propiedades químicas de forrajes tropicales. Hughes et al., (2017) reportan coeficientes de determinación entre 0.7 a 0.79, 0.54 a 0.79, 0.15 a 0.31 y 0.22 a 0.81 para la estimación de la FDN, FDA, lignina y DIVMO respectivamente en 3 especies de gramíneas tropicales (*B. hybridus*, *M. maximus* y *P. atratum*).



Figura 4. FieldScout CM 1,000 NDVI de Spectrum Technology[®], para la estimación de propiedades químicas en plantas. Spectrum Tecnoligies, Inc.2. (2019).{ }

Starks et al., (2006), utilizaron un espectrofotómetro portátil FieldSpec FR (Analytical Spectral Devices Inc. (ASD), Boulder, CO, USA) el cual utiliza un rango espectral de 350 a 2500nm para estimar propiedades químicas en el dosel del pasto Bermuda (*Cynodon dactylon L.*), encontrando coeficientes de determinación (R^2) de 0.23, 0.209 y 0.507 para el contenido de FDN, FDA y PC, respectivamente(Starks et al., 2006).

Si bien no existen muchos estudios que muestren la cuantificación de otras propiedades químicas en forrajes como contenido de azúcares, lignina y cenizas que son de interés en la nutrición animal por metodologías ópticas, si existe suficiente evidencia que relaciona la cuantificación de estos compuestos con longitudes de onda específicas.

DuBois et al., (1956) Indican que el contenido de azúcares y otras sustancias relacionadas se pueden estimar mediante métodos colorimétricos apoyados en interacciones entre moléculas con bandas del espectro visible. Por ejemplo, la D-fructosa, la D- glucosa, sacarosa, 5- hidroximetil-2-furaldeido, almidones, Dextran, D-manosa, D-Xylosa, D-maltosa absorben a longitudes de onda de 490nm, 485 nm, 490 nm, 490 nm, 488 nm, 488 nm, 485, 480, 490nm, respectivamente(DuBois et al., 1956).

González Larraina , (1981), Glories , (1978), Somers, (1985) citados por Elejalde. (1999) reportan que la determinación de polifenoles totales se puede realizar mediante métodos ópticos ya que estos compuestos presentan la mayor absorbancia a una longitud de onda de 280 nm.

1.2.1 Análisis multivariados utilizados en los métodos espectrofotométricos

Todas las técnicas que utilizan sistemas ópticos para la estimación de propiedades químicas en distintas matrices requieren de la utilización de métodos estadísticos que permiten relacionar un gran número de variables generalmente absorciones y reflexiones de luz en distintas longitudes onda con valores de composición química estimados con métodos analíticos de referencia(Tran et al., 2010).

Actualmente existen múltiples modelos matemáticos que permiten relacionar resultados químicos con datos espectrales, dentro de los cuales la regresión de mínimos cuadrados parciales (PLS por sus siglas en inglés) y la regresión lineal múltiple son los más comunes(Tran et al., 2010).

La regresión PLS es una técnica de análisis multivariado para evaluar modelos estructurales, es un método general para la estimación de modelos PATH que conllevan constructos latentes medidos indirectamente por múltiples indicadores (Hair J. et al,

2016). Esta herramienta tiene como objetivo el análisis casual-predictivo y se utiliza cuando la base datos presenta las siguientes características:

Alto número de factores

Alta Colinealidad entre los factores

Desconocimiento previo de la relación entre los valores predichos y predictores.

A diferencia de la regresión múltiple los análisis PLS no presumen que los predictores son fijos lo cual significa que cada predictor puede tener asociado un error, lo que la convierte en una prueba más robusta a la incertidumbre de las mediciones (Henseler, J. et al. 2006).

Los usos más comunes de la regresión PLS se encuentran asociados con la industria química, farmacéutica e instrumental. Dentro de las aplicaciones más comunes se encuentra la modelación de mediciones espectrales (NIR, UV, IR) para predecir propiedades químicas en múltiples matrices, sin embargo, es importante señalar que esta metodología no suele utilizarse para descartar variables que no son útiles para explicar la respuesta (Hulland, J. 1999).

El análisis de regresión múltiple permite establecer relaciones entre una variable dependiente Y y un conjunto de variables (X_1, X_2, \dots, X_n) (Licht, M. 1995).

Matemáticamente los análisis de regresión lineal múltiple presentan la siguiente forma:

$$Y: a + b_1 X_1 + b_2 X_2 + \dots + b_n X_n + e$$

Donde:

Y: variable a predecir

X_n : factor n

b_n : pendiente asociada al factor n

e: error experimental

En el análisis de regresión lineal múltiple la construcción de las ecuaciones se realiza seleccionando las variables que formaran el modelo una a una, esto con el fin de identificar aquellos factores que tengan un efecto significativo ($p\text{-value} < 0.05$) sobre la variable predicha (Licht, M. 1995)..

Todas las variables utilizadas en el modelo de regresión lineal múltiple deben de cumplir con las siguientes asunciones:

Linealidad: los valores de la variable dependiente se generan por el modelo $Y = X * B + U$

Homocedasticidad: todas las variables tienen la misma varianza

Independencia: las variables son independientes entre si

Normalidad: las variables tienen distribución normal

Los valores X_n se obtienen sin errores de media

La cuantificación del desempeño de los modelos matemáticos puede expresarse en función de múltiples parámetros estadísticos, los cuales buscan cuantificar la exactitud y precisión de las estimaciones realizadas con el modelo (Fisher, R. et al.2018).

- **Coefficiente de correlación múltiple (r):** mide la intensidad de la relación entre un conjunto de variables independientes y una variable dependiente (Fisher, R. et al.2018).
- **Coefficiente de determinación múltiple (R^2):** mide la proporción o porcentaje de la variación de la variable dependiente que es expresada por las variables independiente. Este parámetro puede tomar valores entre 0 y 100 cuando es expresada como porcentaje, entre más alto sea el valor indica que un mayor porcentaje de la variación en la respuesta de la variable dependiente es explicado por las variables independientes y por tanto el modelo permite realizar estimaciones confiables (Fisher, R. et al.2018).
- **Error típico:** indica la parte de la variable dependiente que no se explica por el modelo, lo cual implica que a medida que se incrementa el coeficiente del error descende (Fisher, R. et al.2018).

1.3 Análisis de imágenes multiespectrales

Como su nombre lo indica la técnica de imágenes multiespectrales (IME) estudia las diferencias que existen en el patrón de absorción y refracción de luz de una misma imagen tomada en distintas longitudes de onda (Weng, 2011), diferencias que están asociadas con cambios en la composición química de las matrices y por ende permiten la estimación de compuestos químicos que son de interés en ciencias como la nutrición, farmacéutica, medicina, etc.

Como se pudo observar en la sección anterior, distintos compuestos químicos absorben mayor cantidad de luz en longitudes de onda específicas, por lo cual en el análisis de imágenes espectrales se pueden identificar fácilmente ya que dichos compuestos pueden ser visibles cuando reflejan toda la luz emitida o en su defecto desaparecen cuando absorben toda la luz que se emitió desde la fuente.

La aplicación de las imágenes multiespectrales cubre un amplio rango en ciencias como la medicina, agricultura, sistemas de información geográficos, etc.

En la agricultura, se han utilizado para estimar propiedades químicas en hojas (Kolb et al., 2003), calidad de frutos como bananas, kiwis y papayas (Blackmer and Schepers, 1994; Bron et al., 2004; Lenk et al., 2006), en la detección de síntomas tempranos de enfermedades (Lichtenthaler et al., 1996) y la determinación del estado de nutrición de cultivos comerciales de gran escala como frutales permanentes, maíz, trigo, etc. (Perry and Davenport, 2007).

Roth et al., (2015) indica que se pueden utilizar las imágenes espectrales para identificar tipos de cobertura vegetal de forma rápida y precisa, basado en imágenes que pueden ser tomadas por satélites o naves no tripuladas como un Dron. Dichas imágenes son ampliamente utilizadas para identificar cambios en la cobertura de grandes superficies como los casquetes polares los cuales están asociados a problemas ambientales.

1.3.1 Cámara AFT

Con el sistema AFT estudiado en esta tesis, es posible obtener imágenes de una matriz en 17 longitudes de onda diferentes, las cuales cubren desde el rango visible hasta el infrarrojo cercano (Tabla 1).

El sistema AFT fue construido en el laboratorio de Microbiología de Suelos de la Universidad Nacional de Colombia -Medellín. Este sistema consiste en un módulo de iluminación y captura de imágenes dentro de una esfera integradora compuesta por un circuito electrónico y una tarjeta de control de iluminación acoplados a una tarjeta Arduino UNO (Figura 5).

Para la captura de las imágenes se emplea una cámara web de 2MP con el filtro infrarrojo removido para tener sensibilidad en este rango espectral. Todo el sistema es controlado mediante un software escrito en Python y se opera con una computadora bajo ambiente Windows 7. Las características más relevantes se presentan en la Figura 6.

Tabla 1. Fuentes de luz LED usadas en el sistema de imágenes multispectrales. En la columna Pico se presenta el pico de emisión medido en un espectrómetro Flame de OceanOpticsTM

Referencia fuente de luz	Pico (nm)
427	427.5
445	445
465	465
493	493
510	510
525	525
590	590
607	607
625	625
650	650
730	730
780	780
840	840
850	850
870	870
910	910
940	940

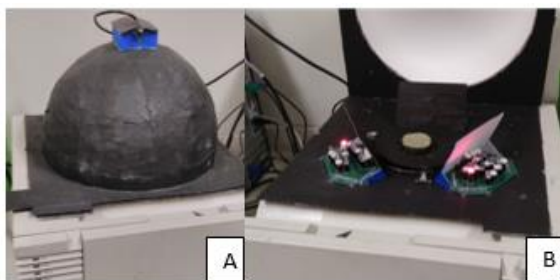
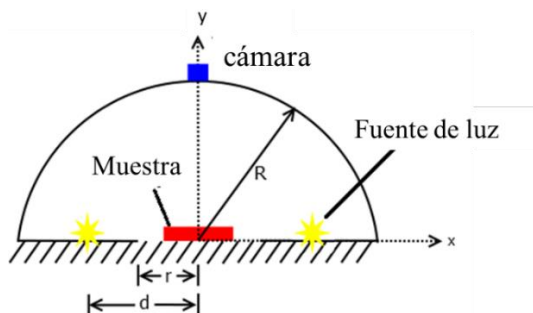


Figura 5. apariencia general de la cámara AFT. A- semiesfera integradora B- interior de la cámara AFT.



A semiesfera integradora de luz - B ubicación del sistema de iluminación de la cámara y la muestra - R radio de la semiesfera integradora - d distancia al centro - r radio de muestreo.

Figura 6. Componentes de la cámara AFT Pineda (2017).

R corresponde al radio de la semiesfera integradora empleada para distribuir uniformemente la luz, y que en este caso fue de 15 cm. Las fuentes de luz se ubican alrededor de la muestra en forma triangular de a tres LEDs por longitud de onda y ubicados a una distancia igual con respecto al centro del eje coordenado (d). El radio del área de muestreo viene dado por r el cual para este caso fue de 7cm^2 , espacio en el cual se ubica la muestra que se desea medir. Finalmente, la cámara está ubicada justo encima del área de muestreo sobre el eje y (Figura 6).

En la cámara AFT cuando se ilumina una matriz, la cantidad de luz no absorbida por la muestra es reflejada y detectada por el lente de una cámara fotográfica convencional, la cual es representada en una imagen con tonos de gris más claros.

En este orden de ideas, se puede indicar que el contenido de gris estimado por la cámara está directamente relacionado con la absorción o reflexión de luz de ciertos compuestos químicos presentes en la muestra. El valor de gris es un número que tiene unidades arbitrarias y adimensionales, este puede ser tan bajo como 0 donde se absorbe toda la luz emitida (completamente negro) y en el caso contrario donde se refleja toda la luz emitida puede llegar a tomar un valor de hasta 225 (completamente blanco).

La cantidad de luz que llega hasta la cámara es convertida en una señal eléctrica la cual es proporcional a la intensidad de la luz, por tanto, es posible establecer una relación

matemática entre la cantidad de luz captada con la cámara en las distintas longitudes de onda y el valor de gris.

La cámara AFT se encuentra basada en el principio óptico de la reflexión difusa, la cual cuando un rayo de luz incide sobre una muestra, se reflejan rayos en ángulos dispersos (Figura 7), de modo tal que no se crean sombras o puntos ciegos dentro de la cámara que pudiesen limitar la capacidad del sensor óptico para capturar la luz.

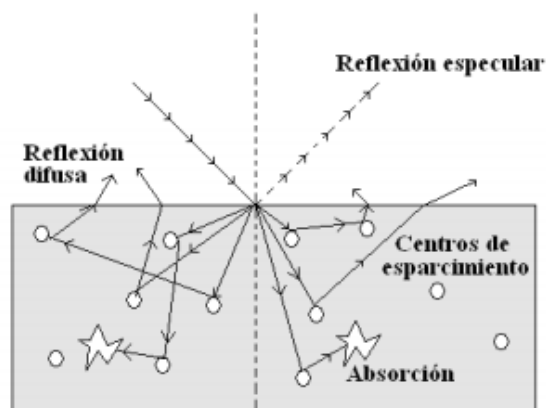


Figura 7. Principio óptico de la reflexión difusa (Orozco. E, 2009).

La radiación reflejada por una muestra tiene dos componentes la especular y la difusa y como su nombre lo indica el objetivo de la reflexión difusa es precisamente el análisis espectral de la componente reflejada mediante el fenómeno de difusión.

La reflectancia especular se presenta cuando el material sobre el que se produce la reflexión tienen valores altos de los coeficientes de absorción para una longitud de onda incidente; cuando la penetración de la radiación es muy pequeña en comparación con la longitud de onda y cuando las dimensiones de la superficie reflectante son mucho mayores que la longitud de onda (Orozco. E, 2009).

La reflexión difusa tiene lugar en todas las direcciones de la superficie como consecuencia de los procesos de absorción y esparcimiento y predomina cuando los materiales de la superficie reflectante son débilmente absorbentes a la longitud de onda incidente y cuando la penetración de la radiación es grande en relación a la longitud de onda (Orozco. E, 2009).

La medida de reflexión en condiciones normales incluye los dos componentes de la reflexión. La componente especular contiene muy poca información de la composición,

por lo que su contribución a las medidas se minimiza con la posición del detector respecto a la muestra; mientras que el componente difuso aporta mayor información de la composición química (Orozco. E, 2009).

Con la luz que no es absorbida se generan procesos de absorción y esparcimiento (Figura 7) los cuales tienen una relación estrecha con la composición química, tamaño de partícula, etc. Múltiples estudios han demostrado que las propiedades ópticas de los forrajes muestran una estrecha relación con su composición química (Kolb et al., 2003).

Una vez se obtienen las imágenes de las muestras en distintas longitudes de onda, con una macro personalizada desarrollada por Pineda (2017) en el software libre Image J (Schneider et al., 2012), se puede obtener y organizar automáticamente los valores de gris de las muestras en cada una de las longitudes de onda utilizadas.

Finalmente, mediante métodos estadísticos de regresión multivariados se pueden establecer ecuaciones que permitan relacionar la información obtenida de las imágenes con propiedades químicas de interés en las muestras.

Estudios previos realizados por Pineda (2017), muestran un alto desempeño de este sistema para estimar el contenido de aceite de aguacates variedad Has. Igualmente se ha utilizado esta cámara para estimar minerales en muestras foliares de crisantemos (Ca, P, N, Zn,Fe) con resultados favorables (datos no publicados).

2. Hipótesis y Objetivos

2.1 Hipótesis

La estimación del contenido de FDN, FDA, Lignina, cenizas, PC y DIVMS utilizando la cámara AFT se correlacionará de manera estadísticamente significativa con los valores de referencia obtenidos mediante métodos químicos estandarizados.

2.2 Objetivos

2.2.1 Objetivo General

Evaluar el desempeño de la cámara AFT para estimar compuestos químicos de interés en la nutrición de rumiantes en gramíneas de los géneros *Bracharia* y *Megathyrus*.

2.2.2 Objetivos específicos

- Establecer una relación estadística entre los valores de gris obtenidos con la cámara AFT y la composición química de gramíneas de los géneros *Bracharia* y *Megathyrus*.
- Obtener modelos matemáticos que permitan estimar los valores de FDN, FDA, Lignina, cenizas, PC y DIVMS a partir de lecturas realizadas con la cámara AFT.
- Realizar una validación real de las curvas de calibración desarrolladas para la cámara AFT.

3. Bibliografía

- AOAC. 2006. Official methods of analysis. 18th ed., 1st rev. AOAC Int., Gaithersburg, MD.
- Adesoganl, A., D. Givensz, and E. Owen. 2000. Measuring Chemical 1 1 Composition and Nutritive Value in Forages. Field and laboratory methods for grassland and animal production research:263.
- Andueza, D., F. Picard, D. Dozias, and J. Aufrère. 2017. EXPRESS: 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*:0003702817712740.
- Banhazi, T. M., and J. L. Black. 2009. Precision livestock farming: a suite of electronic systems to ensure the application of best practice management on livestock farms. *Australian Journal of Multi-disciplinary Engineering* 7(1):1-14.
- Blackmer, T., and J. Schepers. 1994. Techniques for monitoring crop nitrogen status in corn. *Communications in Soil Science & Plant Analysis* 25(9-10):1791-1800.
- Bron, I. U., R. V. Ribeiro, M. Azzolini, A. P. Jacomino, and E. C. Machado. 2004. Chlorophyll fluorescence as a tool to evaluate the ripening of 'Golden' papaya fruit. *Postharvest Biology and Technology* 33(2):163-173.
- Casler, M., and K. Vogel. 1999. Accomplishments and impact from breeding for increased forage nutritional value. *Crop Science* 39(1):12-20.
- Cozzolino, D., and A. Moron. 2004. Exploring the use of near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) to predict trace minerals in legumes. *Animal Feed Science and Technology* 111(1):161-173.
- Decruyenaere, V., P. Lecomte, C. Demarquilly, J. Aufrere, P. Dardenne, D. Stilman, and A. Buldgen. 2009. Evaluation of green forage intake and digestibility in ruminants using near infrared reflectance spectroscopy (NIRS): Developing a global calibration. *Animal Feed Science and Technology* 148(2):138-156.
- Dreassi, E., G. Ceramelli, P. Corti, S. Lonardi, and P. L. Perruccio. 1995. Near-infrared reflectance spectrometry in the determination of the physical state of primary materials in pharmaceutical production. *Analyst* 120(4):1005-1008.
- DuBois, M., K. A. Gilles, J. K. Hamilton, P. t. Rebers, and F. Smith. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical chemistry* 28(3):350-356.
- Fisher, R., Wilson, S. K., Sin, T. M., Lee, A. C., & Langlois, T. J. (2018). A simple function for full-subsets multiple regression in ecology with R. *Ecology and evolution*, 8(12), 6104-6113.
- Follett, R., R. Follett, and A. Halvorson. 1992. Use of a chlorophyll meter to evaluate the nitrogen status of dryland winter wheat. *Communications in Soil Science & Plant Analysis* 23(7-8):687-697.
- Fox, D. G., T. Tylutki, L. Tedeschi, M. Van Amburgh, L. Chase, A. Pell, T. Overton, and J. Russell. 2000. The net carbohydrate and protein system for evaluating herd nutrition and nutrient excretion. CNCPS version 5(0):M1.

- Fox, R., W. Piekielek, and K. Macneal. 1994. Using a chlorophyll meter to predict nitrogen fertilizer needs of winter wheat. *Communications in Soil Science & Plant Analysis* 25(3-4):171-181.
- Godfray, H. C. J., J. R. Beddington, I. R. Crute, L. Haddad, D. Lawrence, J. F. Muir, J. Pretty, S. Robinson, S. M. Thomas, and C. Toulmin. 2010. Food security: the challenge of feeding 9 billion people. *science* 327(5967):812-818.
- Hair Jr, J. F., Hult, G. T. M., Ringle, C., & Sarstedt, M. (2016). *A primer on partial least squares structural equation modeling (PLS-SEM)*. Sage publications.
- Henseler, J., Ringle, C. M., & Sinkovics, R. R. (2009). The use of partial least squares path modeling in international marketing. In *New challenges to international marketing* (pp. 277-319). Emerald Group Publishing Limited.
- Herrera, R., S. González, M. García, C. Ríos, and F. Ojeda. 1979. Análisis químico del pasto. Funes Monzote, Fernando; Febles, Gustavo J.; Sistachs, M.; Suárez, JJ; Pérez Infante, F.(eds.). *Los pastos en Cuba*.
- Hetta, M., Z. Mussadiq, J. Wallsten, M. Halling, C. Swensson, and P. Geladi. 2017. Prediction of nutritive values, morphology and agronomic characteristics in forage maize using two applications of NIRS spectrometry. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B—Soil & Plant Science* 67(4):326-333.
- Hoffman, P. C. 2005. Ash content of forages. *Focus on Forage* 7(1):1-2.
- Hoffmann, D., D. Bruggerb, W. Windischb, and S. Thurnera. 2017. Calibration Model for a Near Infrared Spectroscopy (NIRS) System to Control Feed Quality of Soy Cake Based on Feed Value Assessments In-Vitro. *CHEMICAL ENGINEERING* 58
- Hulland, J. (1999). Use of partial least squares (PLS) in strategic management research: A review of four recent studies. *Strategic management journal*, 20(2), 195-204.
- Hughes, M. P., V. Mlambo, C. H. O. Lallo, N. A. D. Basha, I. V. Nsahlai, and P. G. A. Jennings. 2017. Accuracy of two optical chlorophyll meters in predicting chemical composition and in vitro ruminal organic matter degradability of *Brachiaria* hybrid, *Megathyrus maximus*, and *Paspalum atratum*. *Animal Nutrition* 3(1):67-76. (Article) doi: 10.1016/j.aninu.2016.10.002
- Jiang, H. 2016. *Optical MEMS for chemical analysis and biomedicine*. The Institution of Engineering and Technology.
- Kantety, R., E. van Santen, F. Woods, and C. Wood. 1996. Chlorophyll meter predicts nitrogen status of tall fescue. *Journal of Plant Nutrition* 19(6):881-889.
- Kolb, C. A., J. Kopecký, M. Riederer, and E. E. Pfündel. 2003. UV screening by phenolics in berries of grapevine (*Vitis vinifera*). *Functional plant biology* 30(12):1177-1186.
- Krugh, B., L. Bickham, and D. Miles. 1994. The solid-state chlorophyll meter: a novel instrument for rapidly and accurately determining the chlorophyll concentrations in seedling leaves. *Maize Genetics Cooperation Newsletter* 68:25-25.
- Lenk, S., L. Chaerle, E. E. Pfündel, G. Langsdorf, D. Hagenbeek, H. K. Lichtenthaler, D. Van Der Straeten, and C. Buschmann. 2006. Multispectral fluorescence and reflectance imaging at the leaf level and its possible applications. *Journal of Experimental Botany* 58(4):807-814.
- Licht, M. H. (1995). Multiple regression and correlation. In L. G. Grimm & P. R. Yarnold (Eds.), *Reading and understanding multivariate statistics* (pp. 19-64). Washington, DC, US: American Psychological Association.

- Lichtenthaler, H., M. Lang, M. Sowinska, F. Heisel, and J. Miede. 1996. Detection of vegetation stress via a new high resolution fluorescence imaging system. *Journal of plant physiology* 148(5):599-612.
- Marten, G., J. Halgerson, and J. Cherney. 1983. Quality prediction of small grain forages by near infrared reflectance spectroscopy. *Crop Science* 23(1):94-96.
- OIV-MA-AS323-02^a.2009. Quantification of total nitrogen according to the Dumas method. disponible en: <http://www.oiv.int/public/medias/2578/oiv-ma-as323-02a.pdf>
- Orozco, E.2009. Estudio de lesiones ne piel mediante espectroscopia de reflexión difusa. Tesis de Doctorado Instituto Nacional de Astrofisica, Óptica y Electronica. Disponible en: <https://inaoe.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1009/427/1/OrozcoGuEE.pdf>
- Pedersen, S. M. 2005. Climatization of animal houses: a biographical review of three decades of research. Danish Institute of Agricultural Sciences.
- Pelagotti, A., A. Del Mastio, A. De Rosa, and A. Piva. 2008. Multispectral imaging of paintings. *IEEE Signal Processing Magazine* 25(4)
- Peng, S., F. Garcia, R. Laza, A. Sanico, R. Visperas, and K. Cassman. 1996. Increased N-use efficiency using a chlorophyll meter on high-yielding irrigated rice. *Field Crops Research* 47(2):243-252.
- Perry, E. M., and J. R. Davenport. 2007. Spectral and spatial differences in response of vegetation indices to nitrogen treatments on apple. 59(1):56-65.
- Pfister, J. A., and J. C. Malechek. 1986. The voluntary forage intake and nutrition of goats and sheep in the semi-arid tropics of northeastern Brazil. *Journal of Animal Science* 63(4):1078-1086.
- Reeves, D., P. Mask, C. Wood, and D. Delaney. 1993. Determination of wheat nitrogen status with a hand-held chlorophyll meter: Influence of management practices 1. *Journal of Plant Nutrition* 16(5):781-796.
- Rodríguez Mendoza, M. d. I. N., G. Alcántar González, A. Aguilar Santelises, J. D. Etchevers Barra, and J. A. Santizó Rincón. 1998. Estimación de la concentración de nitrógeno y clorofila en tomate mediante un medidor portátil de clorofila. *Terra Latinoamericana* 16(2)
- Roth, K. L., D. A. Roberts, P. E. Dennison, M. Alonzo, S. H. Peterson, and M. Beland. 2015. Differentiating plant species within and across diverse ecosystems with imaging spectroscopy. *Special Issue on the Hyperspectral Infrared Imager (HyspIRI)* 167(Supplement C):135-151.
- Rowe, R. K., S. P. Corcoran, K. A. Nixon, and R. E. Ostrom. 2005. Multispectral imaging for biometrics. In: *Proc. of SPIE Vol.* p 91.
- Scharf, P. C. 2001. Soil and plant tests to predict optimum nitrogen rates for corn. *Journal of Plant Nutrition* 24(6):805-826.
- Schneider, C. A., W. S. Rasband, and K. W. Eliceiri. 2012. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. 9(7):671-675.
- Skerman, P. J. 1977. Tropical forage legumes. FAO.
- Slater, P. N. 1980. Remote sensing: optics and optical systems.
- Starks, P., D. Zhao, W. Phillips, and S. Coleman. 2006. Herbage mass, nutritive value and canopy spectral reflectance of bermudagrass pastures. *Grass and Forage Science* 61(2):101-111.

- Sánchez, A., R. Delgado, J. Lorbes, V. Rodríguez, L. Figueredo, and C. Gómez. 2017. Diagnóstico e índice para fertilización nitrogenada en etapa vegetativa del cultivo maíz (*Zea mays* L.). *Revista Unellez de Ciencia y Tecnología* 33:75-82.
- spectrum Technology, Inc. (2019). Spad 502 Plus Chlorophyll meter. disponible en: https://www.specmeters.com/store/spad502p/?F_Sort=2
- spectrum Technology, Inc. (2019). FieldScout CM 1,000 NDVI meter disponible en: https://www.specmeters.com/store/fieldscout-cm-1000-ndvi-meter/?F_Sort=2
- Thornton, P. K. 2010. Livestock production: recent trends, future prospects. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 365(1554):2853-2867. doi: 10.1098/rstb.2010.0134
- Tran, H., P. Salgado, E. Tillard, P. Dardenne, X. T. Nguyen, and P. Lecomte. 2010. "Global" and "local" predictions of dairy diet nutritional quality using near infrared reflectance spectroscopy. *Journal of Dairy Science* 93(10):4961-4975. (Article) doi: 10.3168/jds.2008-1893
- Turner, F. T., and M. F. Jund. 1991. Chlorophyll meter to predict nitrogen topdress requirement for semidwarf rice. *Agronomy Journal* 83(5):926-928.
- VAN SOEST, P. 1994. Nutritional ecology of the ruminant. Washington, Cornell University Press, 476p.
- Van Hertem, T., L. Rooijackers, D. Berckmans, A. P. Fernández, T. Norton, and E. Vranken. 2017. Appropriate data visualisation is key to Precision Livestock Farming acceptance. *Computers and Electronics in Agriculture* 138:1-10.
- van Kempen, T., and J.-C. Bodin. 1998. Near-infrared reflectance spectroscopy (NIRS) appears to be superior to nitrogen-based regression as a rapid tool in predicting the poultry digestible amino acid content of commonly used feedstuffs. *Animal Feed Science and Technology* 76(1):139-147.
- Van Soest, P. J., J. B. Robertson, and B. A. Lewis. 1991. Methods for Dietary Fiber, Neutral Detergent Fiber, and Nonstarch Polysaccharides in Relation to Animal Nutrition. *Journal of Dairy Science* 74(10):3583-3597.
- Wathes, C., H. H. Kristensen, J.-M. Aerts, and D. Berckmans. 2008. Is precision livestock farming an engineer's daydream or nightmare, an animal's friend or foe, and a farmer's panacea or pitfall? *Computers and electronics in agriculture* 64(1):2-10.
- Weng, Q. 2011. *Advances in environmental remote sensing: sensors, algorithms, and applications*. CRC Press.
- Wood, C., P. Tracy, D. Reeves, and K. L. Edmisten. 1992. Determination of cotton nitrogen status with a handheld chlorophyll meter. *Journal of Plant Nutrition* 15(9):1435-1448.
- Xiong, D., J. Chen, T. Yu, W. Gao, X. Ling, Y. Li, S. Peng, and J. Huang. 2015. SPAD-based leaf nitrogen estimation is impacted by environmental factors and crop leaf characteristics. *Scientific reports* 5

4. Artículo científico

El artículo científico se realizó siguiendo las normas para autores de la revista mexicana de ciencias pecuarias - revista indexada por Conacyt

1 AFT: una cámara multispectral para el estimar la composición química de los pastos tropicales

2 AFT: A multispectral chamber to estimate tropical grasses chemical composition

3 Julián Arroyave Jaramillo^{1*} - Daniel M. Pineda² - Luis A. Chel Guerrero³ - David

4 Betancur Ancona³ - Luis A. Giraldo Vladerrama⁴ - Juan C. Pérez²

5 ¹ Universidad Autónoma de Yucatán – Campus de Ciencias Biológicas y Agropecuarias ² Universidad

6 Nacional de Colombia Sede Medellín- Facultad de Ciencias ³ Universidad Autónoma de Yucatán

7 Facultad de Ingeniería ⁴ Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín- Facultad de Ciencias

8 Agrarias

9 *Autor corresponsal, Carretera Mérida-Xmatkuil Km. 15.5, Tizapán, 97100 Mérida, Yuc.,

10 jarroyavej@unal.edu.co

11 **RESUMEN:**

12 En este estudio se probó el desempeño de un dispositivo de espectroscopia de imágenes en adelante
13 denominado cámara de Análisis de Forrajes Tropicales (cámara AFT), para estimar propiedades
14 químicas de 6 especies de gramíneas tropicales. Se utilizaron 332 muestras (39 de *Megathyrsus*
15 *maximus* y 293 de cinco especies de *Bracharia*). Todas las muestras fueron analizadas aplicando
16 metodologías analíticas estandarizadas y se utilizó la cámara AFT para obtener 17 imágenes en
17 distintas longitudes de onda que recorren el espectro visible e infrarrojo cercano. El 90% de las
18 muestras de cada especie fue utilizado para desarrollar modelos de regresión multivariados entre
19 los valores de química húmeda y las lecturas de la cámara AFT. Con esos modelos y el 10% de
20 muestras restantes se estimaron el contenido de proteína cruda, fibra detergente neutro, fibra
21 detergente ácida, lignina, ceniza y degradación in vitro de la materia seca. Los resultados indicaron
22 un grado de asociación intermedio alto ($R^2 > 0.35$) entre los valores obtenidos por métodos de
23 referencia y las lecturas de la cámara AFT. Los coeficientes de correlación de predicción
24 presentaron una alta variabilidad entre especies, sin embargo, no se observó diferencia estadística
25 entre los valores de las distintas fracciones químicas estimados con la cámara AFT y las
26 metodologías de referencia (valor $p > 0.05$) en el 97% de las muestras. La cámara ATF muestra un
27 gran potencial para estimar propiedades químicas en las especies *Brachiaria* y *Megathyrsus* y para
28 reducir sustancialmente el tiempo y costo de estos análisis.

29 **Palabras clave: espectroscopia, Composición química, gramíneas**

30

31

32

33

34 **Abstract:**

35 This study tested the initial performance of an image spectroscopy device hereinafter referred to
36 as the Tropical Forage Analysis (AFT) chamber, to estimate chemical properties of six species of
37 tropical grasses. 346 samples (39 of *Megathyrsus maximus* and 332 of five *Bracharia* species)
38 were used. All samples were analyzed by standard chemistry procedures as reference methods and
39 the AFT camera was used to obtain 17 images of the light reflection at wavelengths that travel the
40 visible and near infrared spectrum. 90% of the samples of each species was used to develop
41 multivariate regression models between the values of wet chemistry and the AFT chamber
42 readings. The remaining 10% samples was further used to estimate values of crude protein, neutral
43 detergent fiber, acid detergent fiber, lignin and ash content as well as in vitro degradation of dry
44 matter. Grass sample chemistry showed a high to medium association ($R^2 > 0.35$) between
45 analytical chemistry values and AFT chamber readings. The prediction correlation coefficients
46 showed high variability between species, however, no statistical difference was observed between
47 the values of the different chemical fractions estimated with the AFT chamber and the reference
48 wet chemistry methods ($p \text{ value} > 0.05$) in 97% of the samples. The AFT chamber shows great
49 potential for estimating chemical properties in the *Brachiaria* and *Megathyrsus* species, and its
50 perfection and adoption would greatly cut time and cost of forage sample analysis.

51 **Keywords: spectroscopy, chemical composition, grasses**

52

53

54

55

56

57

58 **Introducción**

59 Según reportes de la Organización de la Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura
60 (FAO) se estima que para el 2050 la población mundial será de 9.7 billones de personas(1), lo cual
61 de manera directa demandará una intensificación masiva de la producción agropecuaria, con el fin
62 de garantizar la demanda de alimentos de la población (2), mediante el incremento de la producción
63 por unidad de área de las tierras dedicadas a la producción pecuaria actualmente.

64 Para asegurar una transformación exitosa de la ganadería tropical (donde las pasturas representan
65 más del 70% de la dieta) (3, 4) hacia sistemas altamente tecnificados, se requiere prestar especial
66 importancia a la alimentación animal, ya que esta variable condiciona en un alto porcentaje la
67 productividad de los rumiantes(5)

68 Para determinar el impacto de la calidad de los recursos alimenticios en el desempeño de los
69 animales de interés zootécnico es necesario un monitoreo constante de la composición
70 bromatológica de los forrajes y demás materias primas usadas en la alimentación, así como el
71 impacto de estas en las principales variables productivas (ganancia diaria de peso, estatus sanitario,
72 conversión alimenticia, etc.).

73 La estimación de la composición química de los forrajes tradicionalmente se ha realizado mediante
74 metodologías analíticas estandarizadas, sin embargo, el alto costo de los análisis químicos y el
75 tiempo que se requiere para procesar y analizar las muestras, limita el número de análisis que se
76 pueden realizar y el uso de los resultados para tomar decisiones en tiempo real dentro de los
77 sistemas de producción(6).

78 El alto desempeño de los sistemas ópticos para estimar propiedades químicas en diferentes
79 matrices ha sido documentado durante décadas (7-9). Con la incorporación de principios ópticos
80 y electrónicos se han logrado desarrollar sistemas portátiles que permiten estimar las propiedades

81 químicas en múltiples compuestos de manera instantánea y a un bajo costo, tanto bajo condiciones
82 de laboratorio como de campo (10).

83 La cámara AFT (análisis de forrajes tropicales) es un sistema económico que permite obtener
84 imágenes de múltiples matrices en 17 longitudes de onda. En este sistema, la cantidad de luz no
85 absorbida por la muestra es reflejada y medida de forma cuantitativa en función de los tonos de
86 gris que presenta la imagen. El conjunto de datos de las longitudes de onda se puede relacionar
87 con propiedades químicas de las muestras y mediante la utilización de herramientas estadísticas,
88 es posible la construcción de modelos de regresión entre los valores de composición química de
89 las muestras y los tonos de gris de las imágenes.

90 Resultados previos obtenidos durante la construcción y validación de la cámara indican que tiene
91 un alto potencial para estimar el contenido de aceite en aguacates (11) y minerales en muestras
92 florales (datos no publicados).

93 El objetivo de este trabajo fue estimar la composición química de 6 especies de gramíneas
94 tropicales con la utilización la cámara AFT, Actualmente no se tienen reportes de un sistema
95 similar utilizado para la estimación de propiedades químicas en forrajes tropicales por lo que poner
96 esta herramienta al alcance de los productores de leche y carne con rumiantes en el trópico es la
97 principal contribución del trabajo.

98 **Materiales y métodos**

99 **Recolección de las muestras**

100 Se utilizaron 6 especies de gramíneas tropicales de los géneros *Megathyrsus* y *Brachiaria* (Tabla
101 1) que se obtuvieron durante el primer semestre de 2017 de parcelas demostrativas ubicadas en la
102 estación agraria Cotové de la Universidad Nacional de Colombia sede Medellín. Las condiciones

103 climáticas bajo las cuales creció el material vegetal fueron: una temperatura media de 32°C, una
 104 precipitación promedio de 10 mm/semana y humedad relativa del 96%. Se aplicó riego por
 105 aspersión a las parcelas dos veces por semana durante aproximadamente 20 min entre las 8 y 9 am.

106 **Tabla 1.** Género y especie de las gramíneas utilizadas en el experimento y número de muestras de
 107 cada especie utilizadas para la construcción del modelo de regresión y posterior validación

Género	Especie	# de muestras utilizadas para la construcción del modelo	# de muestras utilizadas para la validación del modelo
Brachiaria	<i>decumbens</i>	56	6
	<i>dictyoneura</i>	36	5
	<i>dictyoneura CV. Llanero</i>		
	<i>brizantha C.V. Marandù</i>	16	6
	<i>brizantha CV. Piata</i>		
	<i>brizantha- var. Xaraes - Toledo</i>		
		<i>humidicola</i>	66
	<i>ruziziensis</i>	52	6
Megathyrus	<i>maximus CV. Aruana</i>	53	6
	<i>maximus CV. Massai</i>		
	<i>maximus CV. Mombaza</i>		
	<i>maximus CV. Tanzania</i>		

108
 109 Al iniciar el experimento, se realizó un corte de uniformidad de todas las parcelas a 10 cm de altura
 110 y se dividió cada una de estas en 3 secciones iguales de 5 m², cada sección se cosechó en edades
 111 diferentes (15, 25 y 35 días), esto con el fin de obtener un rango amplio de composición química
 112 de las especies en estudio.

113 Para cosechar el material vegetal se realizó un corte con tijeras podadoras manuales Felco-F2 ®
 114 de todas las plantas a 10 cm de la superficie del suelo, posteriormente de todo el material cosechado
 115 se recolectó una muestra de aproximadamente 500 g de forraje verde para realizar los análisis
 116 químicos.

117

118 **Análisis de laboratorio**

119 Todas las muestras fueron secadas en una estufa de aire forzado Dies ® a 60° C por 48 h y
120 posteriormente molidas con un molino de martillo Hammer® mil,MOD, “HM/530” y tamizadas a
121 una criba de 1 mm.

122 Los contenidos de fibra detergente neutra (FDN), fibra detergente ácida (FDA) y lignina se
123 obtuvieron por el método secuencial de Van Soest (5) en un analizador de fibra ANKOM 200 ®.
124 Las cenizas se obtuvieron por incineración directa a 600°C durante dos horas usando una mufla
125 Terrigeno® F2PCA (AOAC,1990, método 942.05). El valor de proteína cruda (PC) se obtuvo
126 indirectamente al multiplicar por 6.25 el contenido de nitrógeno total obtenido mediante el método
127 Kjeldahl (AOAC 1990, método 954.01)(12).

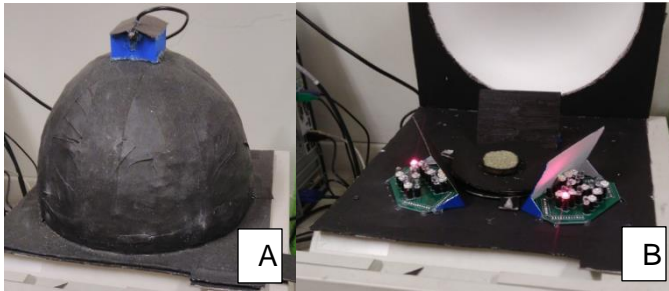
128 La degradación in vitro de la materia seca (DIVMS) se estimó con un analizador Daisy II de
129 ANKOM ®. En cada uno de los 4 recipientes del analizador se adicionaron 1.5 L del medio de
130 cultivo descrito por (13) y 0.5 L de líquido ruminal, el cual se obtuvo de 3 vacas Holstein
131 multíparas alimentadas con pasturas de *Cenchrus clandestinus* (90% de la dieta) y concentrado
132 comercial con 12 % de proteína (10% de la dieta). El porcentaje de digestibilidad de la materia
133 seca se obtuvo por la diferencia de peso entre el sustrato inicial (0.5 g aproximadamente) y los
134 residuos obtenidos después de 48 h de incubación a 40°C con agitación constante.

135 Con el fin de optimizar costos cada fracción química se leyó una única vez en cada una de las
136 muestras.

137 **Obtención de imágenes multiespectrales**

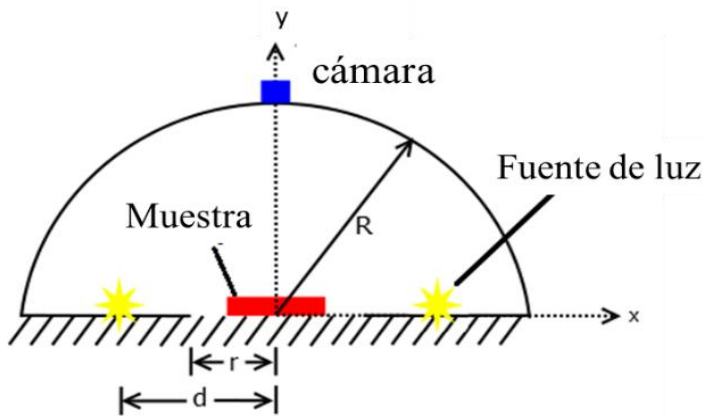
138 El sistema AFT fue construido en el laboratorio de Microbiología de Suelos de la Universidad
139 Nacional de Colombia -Medellín. Este sistema consiste en un módulo de iluminación y captura de

140 imágenes compuesto por un circuito electrónico y una tarjeta de control de intensidad de
141 iluminación acoplados a una tarjeta Arduino UNO (Figura 1). Para la captura de las imágenes se
142 empleó una cámara web de 2MP con el filtro infrarrojo removido para tener sensibilidad en este
143 rango espectral. Todo el sistema es controlado por un software escrito en Python y se operó con
144 computadora bajo ambiente Windows 7. Las características más relevantes se presentan en la
145 Figura 2.



146
147 A-semiesfera integradora de luz y B- ubicación del sistema de iluminación de la cámara y la muestra.

148 **Figura 1.** Sistemas AFT para la estimación de la composición química de gramíneas tropicales.



149
150 **R** corresponde al radio de la semiesfera integradora empleada para distribuir uniformemente la luz sobre la muestra.
151 Para iluminación de la muestra tres LEDs de cada longitud de onda se ubican alrededor de la muestra en forma
152 triangular y equidistantes con respecto al centro del eje coordenado (**d**). El radio del área de muestreo viene dado por
153 **r** el cual para este caso fue de 1.5cm, espacio en el cual se ubica la muestra que se desea medir. Finalmente, la cámara
154 está ubicada justo encima del área de muestreo.

155 **Figura 2.** Diagrama del sistema empleado para la toma de imágenes multispectrales.

156 La fuente de iluminación incluye 17 diodos LED en bandas que cubren el rango visible e infrarrojo
157 cercano (Tabla 2), los cuales fueron seleccionados con base en los diodos disponibles en el
158 mercado al momento del desarrollo del equipo y la relación reportada de estas bandas con la
159 cuantificación de compuestos químicos específicos. Para corroborar que el tipo de luz emitida por
160 cada uno de los 17 LEDs era la indicada por el fabricante, se utilizó un espectrómetro Flame®
161 Ocean Optics TM para identificar el pico de emisión (Tabla 2).

162 **Tabla 2.** Fuentes de luz LED usadas en el sistema de imágenes multispectrales.

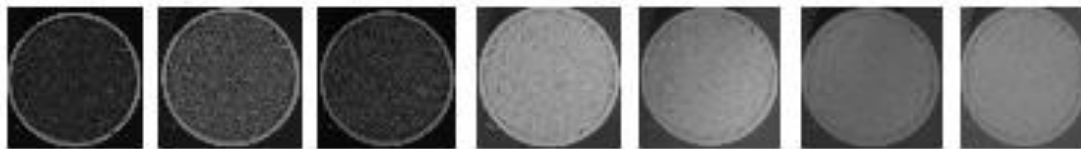
Referencia fuente de luz	Pico (nm)
427	427.5
445	445
465	465
493	493
510	510
525	525
590	590
607	607
625	625
650	650
730	730
780	780
840	840
850	850
870	870
910	910
940	940

163

164 En la columna Pico se observa la fuente de luz de la cada uno de los ledes medidos en un espectrómetro Flame de
165 OceanOpticsTM.

166 Las muestras secas, molidas y tamizadas a un tamaño de criba de 1 mm se deben posicionar sobre
167 el porta muestras asegurándose de cubrir todo el volumen de este (3.5cm³). Una vez se encuentre
168 lleno el porta muestras se debe realizar una leve presión sobre la superficie con un objeto plano
169 con el fin de homogenizar la superficie de la muestra.

170 Cuando se ilumina una muestra de forraje en el sistema AFT, la cantidad de luz no absorbida por
171 la muestra es reflejada y detectada por la cámara (Figura 3). Esta imagen es representada por tonos
172 de gris más claros. Utilizando una macro personalizada en el software libre ImageJ (Schneider et
173 al., 2012), se obtuvieron y organizaron automáticamente los valores de gris de las muestras en cada
174 una de las longitudes de onda para su posterior análisis. La macro usada tiene en consideración
175 una región de interés cuadrada de 75 píxeles de largo.



176

177 **Figura 3.** Imágenes en distintas longitudes de onda de una muestra de forraje

178 **Análisis estadísticos**

179 Todos los análisis se realizaron utilizando el paquete estadístico R(14).

180 Se aplicó estadística descriptiva a los datos de composición química de las gramíneas con el fin de
181 obtener la media, desviación estándar, coeficientes de variación y rangos de cada una de las
182 fracciones químicas para cada especie.

183 Aproximadamente el 90% de las muestras de cada especie se utilizó para la construcción de un
184 modelo de regresión múltiple entre los valores de composición química estimados por química
185 analítica y los valores de gris obtenidos para cada una de las longitudes de onda en estudio (Tabla
186 1) utilizando la librería Leaps descrita por Lumley T. (2017), así, para cada fracción química se
187 comparó su valor de química húmeda (variable dependiente) con 17 valores de gris, uno por cada
188 longitud de onda (variables independientes), y el coeficiente de correlación(R^2) y el cuadrado
189 medio del Error (CME) se usaron como parámetros de precisión del modelo para estimar cada
190 fracción química.

191 El 10% de muestras restantes de cada especie (diferentes al set de calibración) se utilizaron para
192 la validación del modelo de predicción, así, cada una de estas fueron leídas en la cámara AFT y
193 los valores de las distintas fracciones químicas se estimaron utilizando el modelo de predicción.
194 Se compararon los valores de composición bromatológica obtenidos por química analítica y por el
195 modelo de predicción ajustado por BIAS (diferencia media de los residuales), con el fin de obtener
196 el coeficiente de correlación de predicción (R^2P), Error estándar de predicción (SEP) y cuadrado
197 medio del error de predicción (RMSEP).

198 Finalmente, se realizó un análisis de varianza entre los conjuntos de valores predichos y los
199 obtenidos por química analítica, con la utilización de la librería Agricolae descrita por Mendiburu
200 F. (2014), donde se establecieron diferencias estadísticas entre ambas metodologías con un valor
201 $p < 0.05$.

202 **Resultados**

203 La composición química y DIVMS de los 6 géneros de gramíneas tropicales evaluadas se muestran
204 en la Tabla 3.

205 *B. dyctyoneura* presentó los mayores valores de FDN y FDA, seguido de *M.maximus*, *B. brizantha*,
206 *B. humidicola*, *B decumbens*. Para el caso de la lignina *B. humidicola* presentó los valores más
207 altos seguidos de *B. ruziciensis*, *B brizanta*, *M.maximus*, *B. decumbens* y *B. dityoneura*. Los
208 mayores contenidos de cenizas se encontraron en *B. ruziciensis* seguido de *B. dityoneura*, *B.*
209 *decumbens*, *B. humidicola* y *M. maximus*. Para el caso de la proteína cruda *B. decumbens* presentó
210 los valores más altos seguido de *M. maximus*, *B. humidicola*, *B. ruziciensis*, *B brizanta* y *B.*
211 *dityoneura*. Finalmente *B. decumbens* presentó el mayor porcentaje de DIVMS seguido de *B.*
212 *humidicola*, *B. dityoneura*, *M. maximus*, *B. ruziciensis*, *B brizanta*.

213 Los parámetros de las ecuaciones utilizadas para estimación del contenido de FDN, FDA, Lignina,
 214 cenizas, PC y DIVMS con la cámara AFT se muestran en las tablas 4 a 9 respectivamente.

215 **Tabla 3.** Composición química y DIVMS de las gramíneas utilizadas en la construcción y
 216 validación del modelo

Fracción Química	Parámetro	<i>Bracharia brizantha</i>	<i>Bracharia dictyoneura</i>	<i>Bracharia decumbens</i>	<i>Bracharia ruziciensis</i>	<i>Bracharia humidicola</i>	<i>Megathyrus maximus</i>
FDN	Promedio	67.24	70.01	64.36	63.54	65.90	67.61
	Máximo	78.20	76.26	80.54	74.14	79.14	76.58
	Mínimo	57.93	59.80	51.36	48.49	52.57	56.68
	SD	4.11	3.56	5.19	5.70	4.80	4.90
	CV	6.12	5.08	8.07	8.97	7.28	7.26
FDA	Promedio	31.54	33.12	28.04	29.48	30.45	31.98
	Máximo	40.78	36.68	40.49	36.36	39.36	41.58
	Mínimo	23.26	25.27	18.83	19.07	21.31	24.71
	SD	3.23	2.78	4.57	4.45	3.38	4.29
	CV	10.23	8.38	16.30	15.09	11.10	13.40
Lignina	Promedio	3.83	3.35	3.58	3.90	3.96	3.76
	Máximo	6.73	4.34	6.78	6.99	7.33	5.17
	Mínimo	2.87	2.57	1.92	2.77	2.38	2.44
	SD	0.70	0.38	1.21	0.76	1.09	0.61
	CV	18.19	11.47	33.79	19.52	27.55	16.15
Cenizas	Promedio	7.44	6.30	5.79	7.58	5.29	2.84
	Máximo	12.97	13.48	13.01	14.56	14.64	3.26
	Mínimo	2.53	2.25	2.16	1.83	2.43	2.16
	SD	3.96	3.81	3.79	4.42	3.39	0.25
	CV	53.26	60.55	65.35	58.35	64.08	8.71
PC	Promedio	12.60	12.10	17.41	14.08	14.83	15.36
	Máximo	19.48	20.58	24.64	22.45	23.03	21.92
	Mínimo	8.01	8.45	5.63	9.08	8.09	9.14
	SD	2.80	2.73	5.03	3.18	2.93	3.08
	CV	22.20	22.56	28.91	22.56	19.77	20.04
DIVMS	Promedio	50.63	55.51	60.76	51.98	56.70	52.53
	Máximo	59.55	67.79	74.25	68.18	68.58	38.62
	Mínimo	35.77	42.48	44.57	44.15	41.09	73.22
	SD	5.36	6.53	7.82	5.51	6.75	9.07
	CV	10.59	11.76	12.87	10.60	11.90	17.26

217 Los valores de composición química obtenidas mediante metodologías analíticas de referencia
 218 presentaron un grado de asociación intermedio - alto con los valores de gris obtenidos en la cámara
 219 AFT (Tabla 10).

220 *B. brizanta* y *B. dictyoneura* presentaron coeficientes de determinación (R^2) mayores a 0.8 para
 221 todas los análisis evaluados, por su parte el contenido de cenizas mostró el coeficiente de
 222 determinación más bajo ($R^2 < 0.5$) en las especies *B. decumbens*, *B. humidicola*, *M. maximus*, *B.*
 223 *ruziziensis*. Los demás análisis en las distintas especies mostraron un coeficiente de determinación
 224 intermedio ($R^2 > 0,5$ y $R^2 < 0.8$) con excepción del contenido de proteína cruda en *B. decumbens*
 225 ($R^2 0,95$) (Tabla 10).

226 **Tabla 4.** Intercepto y pendiente de las distintas bandas de luz utilizadas en el modelo para la
 227 estimación de FDN.

	<i>B. decumbens</i>	<i>B. dictyoneura</i>	<i>B. brizantha</i>	<i>B. humidicola</i>	<i>B. ruziziensis</i>	<i>M. maximus</i>
intercepto	102.517	-64.021	-139.970	-4.554	98.644	41.705
428nm	0.166	0.083	0.355	-0.212	-0.262	0.450
445nm	-0.377	-0.297	-0.114	-0.234	0.211	-0.133
465nm	0.353	0.235	-0.609	0.346	0.022	1.306
493nm	-0.410	0.729	-0.230	0.830	0.055	-0.144
525nm	0.950	-0.548	-0.706	-0.307	1.709	0.534
560nm	-0.094	0.936	0.946	-0.409	-0.283	0.109
590nm	0.092	-0.235	0.736	-0.205	-0.275	-0.836
607nm	-0.016	0.228	-0.110	0.300	-0.728	-0.032
630nm	-0.750	0.008	-0.045	-0.053	-0.171	-0.033
650nm	0.096	0.452	0.485	0.060	0.004	-0.465
730nm	0.236	-0.027	0.255	0.190	-0.221	0.329
780nm	-0.745	0.164	-0.764	-0.458	-0.417	-0.662
840nm	-0.152	0.076	-0.073	0.517	-0.426	-0.201
850nm	-1.133	-0.686	-1.302	0.200	0.190	-0.238
870nm	0.025	0.203	3.072	0.036	-0.442	0.605
910nm	2.380	0.101	-0.339	-0.132	0.923	0.112
940nm	-0.774	0.127	-0.715	-0.445	0.203	0.313

229 **Tabla 5** Intercepto y pendiente de las distintas bandas de luz utilizadas en el modelo para la
 230 estimación de FDA.

	<i>B. decumbens</i>	<i>B. dictyoneura</i>	<i>B. brizantha</i>	<i>B. humidicola</i>	<i>B. ruziziensis</i>	<i>M. maximus</i>
intercepto	32.581	-10.438	-26.773	0.025	5.911	8.241
428nm	-0.007	-0.009	0.008	-0.025	0.098	0.035
445nm	-0.053	-0.064	-0.033	-0.046	0.123	-0.002
465nm	0.108	0.064	-0.004	0.194	0.086	0.074
493nm	-0.054	0.052	-0.051	0.270	-0.004	0.006
525nm	0.213	-0.015	-0.131	-0.199	0.058	0.009
560nm	-0.083	0.078	0.091	-0.098	0.009	-0.007
590nm	0.012	-0.121	0.080	-0.139	0.008	-0.048
607nm	-0.051	0.006	0.057	0.054	-0.131	-0.013
630nm	-0.152	-0.001	-0.036	-0.116	-0.036	-0.044
650nm	0.012	0.136	0.137	0.116	0.030	-0.083
730nm	0.063	0.075	0.001	0.150	-0.028	0.147
780nm	-0.152	-0.134	-0.062	-0.072	0.134	-0.092
840nm	-0.032	0.062	-0.004	0.099	-0.072	0.001
850nm	-0.211	-0.067	-0.394	-0.031	-0.030	-0.141
870nm	-0.059	0.067	0.684	-0.115	-0.104	0.317
910nm	0.444	0.078	-0.348	0.128	0.100	-0.103
940nm	-0.131	-0.052	0.080	-0.058	-0.003	-0.090

231 **Tabla 6.** Intercepto y pendiente de las distintas bandas de luz utilizada en el modelo para la
 232 estimación de lignina.

	<i>B. decumbens</i>	<i>B. dictyoneura</i>	<i>B. brizantha</i>	<i>B. humidicola</i>	<i>B. ruziziensis</i>	<i>M. maximus</i>
intercepto	-10.760	-11.186	30.700	25.108	4.569	11.794
428nm	0.486	0.179	-0.015	0.174	-0.214	0.043
445nm	-0.085	0.032	0.162	-0.017	-0.109	-0.007
465nm	-0.012	-0.157	-0.203	-0.271	0.233	0.048
493nm	0.163	0.120	-0.095	-0.038	-0.336	-0.020
525nm	-0.083	-0.885	0.034	0.087	-0.484	-0.006
560nm	0.040	0.119	0.132	0.214	0.367	-0.007
590nm	-0.195	0.242	-0.211	0.116	-0.296	0.047
607nm	-0.136	0.120	-0.280	-0.317	0.297	-0.046
630nm	-0.079	-0.033	0.166	0.226	0.314	-0.005
650nm	0.000	-0.002	-0.081	-0.226	-0.485	-0.029
730nm	0.349	0.412	0.470	0.121	0.734	0.023
780nm	-0.244	-0.351	0.268	0.006	0.039	-0.030
840nm	0.161	0.164	0.053	0.011	0.336	-0.023
850nm	0.440	-0.466	0.966	0.216	-0.430	-0.046
870nm	0.678	0.340	-0.900	0.771	-0.773	-0.009
910nm	-1.778	-1.002	-0.101	-0.633	-0.615	0.049
940nm	0.444	1.171	-0.502	-0.731	1.365	0.004

233 **Tabla 7.** Intercepto y pendiente de las distintas bandas de luz utilizada en el modelo para la
 234 estimación de cenizas.

	<i>B. decumbens</i>	<i>B. dictyoneura</i>	<i>B. brizantha</i>	<i>B. humidicola</i>	<i>B. ruziziensis</i>	<i>M. maximus</i>
intercepto	110.930	-66.423	-121.017	10.700	174.783	107.086
428nm	-0.261	0.369	0.796	-0.204	-0.236	0.042
445nm	0.183	-0.207	-0.062	-0.146	0.062	-0.045
465nm	0.531	0.499	-0.513	-0.369	0.023	1.566
493nm	-0.941	0.863	-0.399	1.196	0.126	-0.132
525nm	-0.050	-1.188	-1.020	-1.021	2.352	0.362
560nm	0.465	1.522	1.321	0.651	-0.282	0.835
590nm	0.346	-0.374	1.164	-0.063	-0.542	-0.924
607nm	0.263	0.487	-0.419	0.471	-0.741	0.273
630nm	-0.701	0.035	-0.039	0.226	-0.412	0.035
650nm	0.236	0.535	0.258	0.187	-0.119	-0.318
730nm	0.314	0.029	0.611	0.120	-0.067	-0.278
780nm	-0.605	0.307	-1.251	-0.841	-1.153	-1.179
840nm	-0.190	-0.027	0.062	0.147	-0.463	-0.225
850nm	-1.655	-0.691	-1.554	1.727	-0.186	1.062
870nm	0.221	0.158	4.396	-0.660	0.393	0.363
910nm	2.679	0.170	-1.628	-0.434	1.128	-1.129
940nm	-0.793	0.070	-0.706	-0.301	0.004	0.790

235 **Tabla 8.** Intercepto y pendiente de las distintas bandas de luz utilizada en el modelo para la
 236 estimación de PC.

	<i>B. decumbens</i>	<i>B. dictyoneura</i>	<i>B. brizantha</i>	<i>B. humidicola</i>	<i>B. ruziziensis</i>	<i>M. maximus</i>
intercepto	-176.196	-218.197	474.871	306.099	-627.417	-20.656
428nm	-1.256	2.762	-2.355	-0.217	3.643	-0.894
445nm	0.533	-8.030	-0.133	2.434	0.032	0.057
465nm	-1.347	4.612	1.400	1.206	-1.217	-1.819
493nm	0.100	-38.890	0.529	-1.988	-0.678	0.557
525nm	-1.138	25.014	1.128	-2.218	-0.046	-1.486
560nm	-1.925	15.502	-2.367	1.743	-1.089	-0.118
590nm	1.605	11.221	-2.762	0.796	-0.562	1.567
607nm	-0.013	-4.267	-0.052	1.780	3.010	0.734
630nm	-0.280	6.321	1.317	-0.183	0.949	0.046
650nm	0.449	-8.239	-0.965	-1.292	-0.579	0.640
730nm	-0.073	-6.703	-0.815	-0.400	0.046	-0.797
780nm	1.715	-1.597	3.174	1.627	-1.688	1.037
840nm	0.035	-1.920	1.029	-1.103	1.216	0.515
850nm	-8.182	17.424	-3.623	-0.393	1.613	1.867
870nm	3.588	27.334	-1.254	-3.515	8.624	-3.832
910nm	3.227	-41.605	3.328	-1.275	-15.193	1.434
940nm	1.940	8.250	-1.824	3.922	4.494	-0.303

237 **Tabla 9.** Intercepto y pendiente de las distintas bandas de luz utilizada en el modelo para la
 238 estimación de DIVMS.

	<i>B. decumbens</i>	<i>B. dictyoneura</i>	<i>B. brizantha</i>	<i>B. humidicola</i>	<i>B. ruzicensis</i>	<i>M. maximus</i>
intercepto	-63.682	54.487	171.163	22.355	-6.986	-25.662
428nm	-0.031	-0.509	-0.529	0.065	0.238	-0.397
445nm	0.394	0.285	0.086	0.102	0.02	0.132
465nm	-0.243	-0.211	-0.137	-0.044	-0.34	-0.857
493nm	0.54	0.052	0.193	-0.745	0.079	-0.148
525nm	-0.854	-0.683	1.233	0.685	-0.835	0.02
560nm	0.603	-0.051	-0.767	0.359	0.384	-0.371
590nm	-0.419	0.485	-0.713	-0.401	0.186	0.4
607nm	0.353	-0.199	0.006	0.171	0.447	0.289
630nm	0.566	0.043	-0.09	-0.059	0.181	-0.236
650nm	0.094	-0.278	-0.136	0.209	-0.171	0.835
730nm	-0.345	0.214	-0.409	-0.343	0.057	-0.593
780nm	0.171	-0.918	0.549	-0.025	-0.429	-0.059
840nm	0.216	0.287	-0.237	-0.323	0.221	0.164
850nm	0.722	0.191	-0.331	-0.041	0.291	-0.073
870nm	0.089	0.595	-1.902	0.145	0.127	-0.182
910nm	-1.593	-0.02	1.242	0.273	-0.83	0.253
940nm	0.707	-0.251	1.064	0.222	0.49	0.224

239

240 **Tabla 10.** Coeficiente de determinación (R^2) entre los valores de gris y la composición química
 241 de las distintas gramíneas obtenida por metodologías analíticas de referencia.

Especie	R^2					
	FDN	FDA	Lignina	Cenizas	CP	DIVMS
<i>Bracharia brizantha</i>	0.92	0.95	0.96	0.94	0.91	0.92
<i>Bracharia dictyoneura</i>	0.82	0.91	0.95	0.81	0.84	0.83
<i>Megathyrsus maximus</i>	0.74	0.76	0.58	0.43	0.66	0.74
<i>Bracharia decumbens</i>	0.69	0.87	0.59	0.43	0.96	0.56
<i>Bracharia ruzicensis</i>	0.66	0.59	0.86	0.51	0.74	0.68
<i>Bracharia humidicola</i>	0.63	0.61	0.60	0.35	0.63	0.55

242

243 En la tabla 11 se presentan el cuadrado medio del error, se observa que el contenido de Lignina y
244 cenizas mostraron los mejores ajustes en todas las especies.

245 En la validación de los modelos de predicción se encontró que el coeficiente de determinación de
246 predicción (R^2_p) para la FDN fue mayor a 0.6 en todas las especies con excepción de *B. humidicola*
247 la cual presentó un R^2_p de 0.19. *B. ruzicensis* y *B. humidicola* presentaron un R^2_p de 0.53 y 0.0047
248 respectivamente en la estimación de la FDA, las demás especies presentaron valores mayores a
249 0.6 para este parámetro. El contenido de lignina solo presentó un grado de asociación alto en la
250 especie *M. maximus* ($R^2_p > 0.8$) y moderado en *B. ruzicensis* (R^2_p : 0.55), las demás especies
251 mostraron un grado de asociación bajo. El contenido de cenizas mostró un grado de asociación
252 moderado en las especies *M. maximus* y *B. decumbens* (R^2_p de 0.61 y 0.79 respectivamente). El
253 R^2_p encontrado para el contenido de PC fue moderado-alto para todas las especies a excepción de
254 *B. humidicola* donde se obtuvo un valor < 0.4 , finalmente, la digestibilidad in-vitro de la materia
255 seca presentó asociaciones moderadas y altas en todas las especies donde el grado de asociación
256 más bajo se encontró en la especie *B. ruzicensis* (R^2_p : 0.57) y el más alto en la especie *B.*
257 *dictyoneura* (R^2_p : 0.98) (Figura 4).

258 El error estándar de predicción (SEP) y el cuadrado medio del error de predicción (RMSEP) se
259 presentan en las tablas 12 y 13 respectivamente, en ambos casos el contenido de cenizas y lignina
260 presentaron los valores más bajos para todas las especies.

261 *B. dictyoneura*, presentó el valor más alto de SEP para la FDN (17.98), seguido de *B. humidicola*
262 y *M. maximus* (11.82 y 6.01 respectivamente). En la FDA, *B. decumbens* presentó el menor valor
263 de SEP (0.83) y *B. humidicola* presentó el valor más alto (6.77). Para el contenido de lignina
264 *B. decumbens* presentó el valor más alto (1.89), seguido de *B. humidicola* y *B. dictyoneura* (0.78 y
265 0.73 respectivamente) las demás especies presentaron valores cercanos a 0.1. *B. dictyoneura*

266 presentó el valor más alto de SEP para el contenido de cenizas (9.43) y *M. maximus* los más bajos
 267 para esta misma fracción química (0.05). En el contenido de PC *B. humidicola* presentó los valores
 268 más altos se SEP (6.77) seguido de *B. dyctioneura* (5.01) y los valores de SEP más bajos se
 269 obtuvieron con *B. decumbens* (0.83). finalmente, la DIVMS presentó los valores más altos de SEP
 270 en la especie *B.brizantha* (87.98), seguido de *B.humícola* (43.57) y los valores más bajos se
 271 obtuvieron con la especie *B. dyctioneura* (1.39)

272 Los valores más altos del RMSEP para FDN y FDA se obtuvieron en *B.humícola* (4.01 y 2.95
 273 respectivamente); por su parte *B. ruziciensis* presentó los valores más bajos de RMSEP para la
 274 FDN (1.38) y *B. decumbens* presentó el valor más bajo para la FDA (0.61). Los valores más bajos
 275 de RMSEP para lignina y cenizas se obtuvieron en la especie *M.maximus* (0.29 y 0.2
 276 respectivamente) y los más altos con *B. decumbens* y *B. dyctioneura* respectivamente (1.09 y 2.75).
 277 El contenido de PC de *B.humícola* presentó los valores más altos de RMSEP (3.86) y los más bajos
 278 se observaron con *B. decumbens* (0.72). El RMSEP en la DIVMS fue máximo en *B. brizantha*
 279 (8.56) y mínimo en *B. dyctioneura* (1.05).

280 **Tabla 11.** Cuadrado medio del error (CME) entre los valores obtenidos por métodos analíticos
 281 estándar y la cámara AFT para una misma muestra.

Especie	CME					
	FDN	FDA	Lignina	Cenizas	CP	DIVMS
<i>Bracharia brizantha</i>	2.89	2.05	0.45	1.41	2.42	1.69
<i>Bracharia dictyoneura</i>	1.96	1.29	0.21	0.82	2.62	1.9
<i>Megathyrus maximus</i>	2.49	2.13	0.37	0.18	1.79	4.55
<i>Bracharia decumbens</i>	3.68	2.51	0.66	1.75	2.35	5.12
<i>Bracharia ruziciensis</i>	3.57	2.52	0.37	1.8	1.89	1.77
<i>Bracharia humidicola</i>	3.99	2.93	0.8	1.49	1.85	3.51

282

283

284

285 **Tabla 12.** Error estándar de predicción (SEP)

Especie	SEP					
	FDN	FDA	Lignina	Cenizas	PC	DIVMS
<i>Megrathysus maximus</i>	6.01	3.02	0.10	0.05	3.02	18.72
<i>Bracharia brizantha</i>	4.55	4.79	0.13	0.33	4.79	87.98
<i>Bracharia dictyoneura</i>	17.98	5.01	0.73	9.43	5.01	1.39
<i>Bracharia humidicola</i>	11.82	6.77	0.78	0.45	6.77	43.57
<i>Bracharia ruziciensis</i>	3.07	3.21	0.13	0.72	3.21	10.36
<i>Bracharia decumbens</i>	4.24	0.83	1.89	0.27	0.83	10.85

286

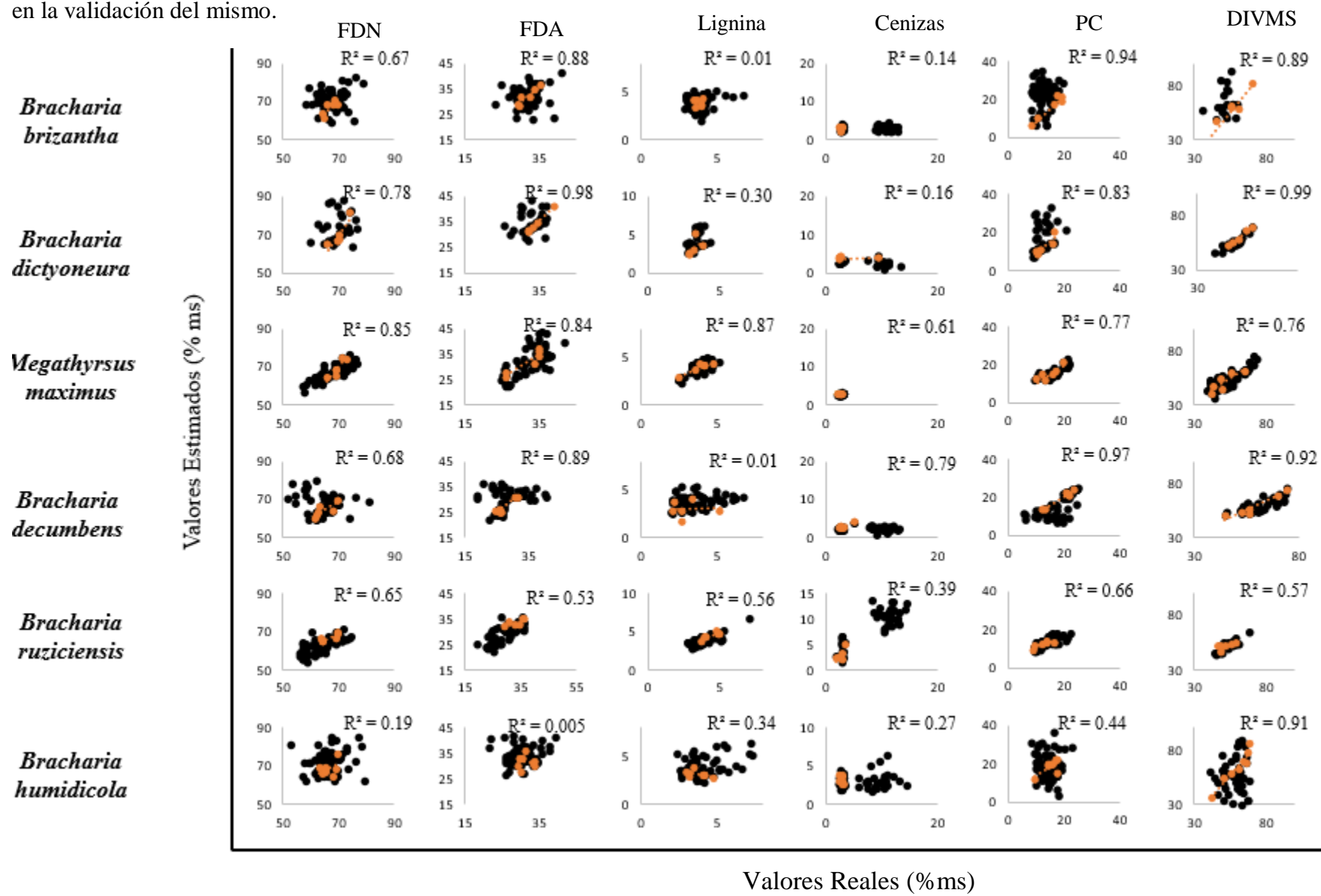
287 **Tabla 13.** Cuadrado medio del error de predicción (RMSEP)

Especie	RMSEP					
	FDN	FDA	Lignina	Cenizas	PC	DIVMS
<i>Megrathysus maximus</i>	2.24	1.70	0.29	0.20	1.59	3.95
<i>Bracharia brizantha</i>	1.95	1.02	0.33	0.52	2.00	8.56
<i>Bracharia dictyoneura</i>	3.79	1.10	0.77	2.75	2.00	1.05
<i>Bracharia humidicola</i>	4.01	2.95	1.05	0.69	3.86	7.20
<i>Bracharia ruziciensis</i>	1.38	1.67	0.25	0.76	1.63	2.93
<i>Bracharia decumbens</i>	1.82	0.61	1.09	0.37	0.72	3.01

288

289 Al comparar los valores obtenidos por métodos analíticos de referencia del set de muestras de
 290 validación con los obtenidos con la cámara AFT, no se observaron diferencias estadísticamente
 291 significativas entre estos (valores $p > 0.05$), con excepción del contenido de lignina de la especie
 292 *B.humidicola* donde se obtuvo un valor p de 0.02, (3.125 Vs 3.77 para los valores estimados con
 293 la cámara AFT y química húmeda respectivamente) (Tabla 14).

294 **Figura 4.** Coeficientes de correlación de predicción (R^2_p), en negro datos usados para la construcción del modelo y en naranja los datos usados
 295 en la validación del mismo.



297 **Tabla 14.** Comparación estadística entre los valores predichos y obtenidos por métodos analíticos estándar.

Especie	PC		FDN		FDA		Lignina		Cenizas		DIVMS		P-value					
	AFT	QA	AFT	QA	AFT	QA	AFT	QA	AFT	QA	AFT	QA	PC	FDN	FDA	Lignina	Cenizas	DIVMS
<i>B. decumbens</i>	19.12a	19.13	64.37	64.35	27.5	27.53	3.06	3.08	3.21	3.22	59.32	59.3	0.99	0.95	0.96	0.97	0.99	0.84
<i>B. dictyoneura</i>	13.28	13.26	70.06	70.04	34.26	34.25	3.27	3.26	3.96	3.95	59.53	59.58	0.99	0.96	0.98	0.99	0.99	0.99
<i>B. brizantha</i>	15.42	15.41	66.83	66.84	31.72	31.79	3.83	3.84	2.85	2.85	54.85	54.81	0.95	0.98	0.99	0.96	0.99	0.99
<i>B. humidicola</i>	18.39	15.4	68.7	66.31	31.64	31.46	3.125	3.77	3.29	3.01	63.55	59.86	0.07	0.14	0.87	0.02	0.18	0.57
<i>B. ruzizensis</i>	12.68	12.65	66.68	66.70	33.83	33.40	4.42	4.4	2.8	2.82	51.58	51.58	0.96	0.99	0.98	0.89	0.974	0.99
<i>M. maximus</i>	15.01	15.00	69.36	69.26	31.85	31.83	3.87	3.85	2.70	2.68	50.80	50.78	0.99	0.97	0.99	0.96	0.91	0.99

298 PC: proteína cruda, FDN: Fibra detergente neutro, FDA: Fibra detergente ácido, DIVMS: digestibilidad in-vitro de la materia seca.

299 ¹ Promedio de los valores estimados utilizando la cámara AFT

300 ² Promedio de los valores estimados utilizando por métodos analíticos estándar.

301 Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas con un valor $p < 0.05$

Especie	PC		FDN		FDA		Lignina		Cenizas		DIVMS		P-value					
	AFT	QA	AFT	QA	AFT	QA	AFT	QA	AFT	QA	AFT	QA	PC	FDN	FDA	Lignina	Cenizas	DIVMS
<i>B. decumbens</i>	19.12a	19.13	64.37	64.35	27.5	27.53	3.06	3.08	3.21	3.22	59.32	59.3	0.99	0.95	0.96	0.97	0.99	0.84
<i>B. dictyoneura</i>	13.28	13.26	70.06	70.04	34.26	34.25	3.27	3.26	3.96	3.95	59.53	59.58	0.99	0.96	0.98	0.99	0.99	0.99
<i>B. brizantha</i>	15.42	15.41	66.83	66.84	31.72	31.79	3.83	3.84	2.85	2.85	54.85	54.81	0.95	0.98	0.99	0.96	0.99	0.99
<i>B. humidicola</i>	18.39	15.4	68.7	66.31	31.64	31.46	3.125	3.77	3.29	3.01	63.55	59.86	0.07	0.14	0.87	0.02	0.18	0.57
<i>B. ruzizensis</i>	12.68	12.65	66.68	66.70	33.83	33.40	4.42	4.4	2.8	2.82	51.58	51.58	0.96	0.99	0.98	0.89	0.974	0.99
<i>M. maximus</i>	15.01	15.00	69.36	69.26	31.85	31.83	3.87	3.85	2.70	2.68	50.80	50.78	0.99	0.97	0.99	0.96	0.91	0.99

303 **Discusión**

304 El sistema AFT utilizado aquí permitió estimar en forma razonable, rápida y sin contacto, la
305 calidad nutricional de seis especies de gramíneas tropicales, a partir de ecuaciones de
306 predicción construidas con imágenes multiespectrales y métodos analíticos estándar. Las
307 pasturas presentaron valores de composición química en un rango amplio ideal para la
308 construcción de esos modelos de regresión, y en conjunto estos resultados favorecieron el
309 desarrollo y calibración de un nuevo sistema para estimar de forma rápida y precisa
310 propiedades nutrimentales en forrajes tropicales.

311 El desempeño de ganaderías que están extendidas ampliamente en regiones de América y
312 que comúnmente están en conflicto permanente con políticas ambientales se mejoraría si se
313 facilita el acceso a nuevas herramientas o servicios analíticos basados en espectroscopia de
314 imágenes, equipos desarrollados localmente y estrategias de calibración simple (39).

315 A pesar de la importancia de los forrajes para la ganadería tropical, el uso intensivo de análisis
316 de composición química y degradación es limitado a proyectos de investigación y es apenas
317 ocasional o inexistente en ganaderías comerciales. Esto puede deberse a la poca
318 disponibilidad de laboratorios, costo de los análisis, tiempo necesario para entrega de
319 resultados y dificultades para la interpretación de los mismos(15). Este último podría deberse
320 a la inexistencia de parámetros nutricionales en forrajes o niveles críticos desarrollados en
321 condiciones tropicales locales, que permitan tomar decisiones de ajuste de dietas o
322 suplementos adecuados. Esos niveles críticos deben determinarse de un gran número de
323 análisis químicos en muestras de forraje con composición variable.

324 La composición química de las plantas, independientemente de su vía bioquímica
325 fotosintética (C4 o C3), varía en función de la disponibilidad de nutrientes en el suelo y la
326 edad(16), lo cual posiblemente explica la alta variabilidad encontrada en la composición
327 química y degradación de la materia seca en el presente estudio.

328 Los valores de composición química obtenidos concuerdan con los reportados por Herrero et
329 al., (2001) para *B. brizantha*, *B. humidicola*, *B. ruziziensis*, *B. decumbens* (17) y con los
330 reportados por Monrroy et al., (2017) para la composición química promedio del género
331 *Brachiaria*(18). La DIVMS y el contenido de FDN, FDA, lignina y PC concuerdan con los
332 reportados por Moreira et al., (2018) para las especies *Brachiaria ruziziensis* cv. 'Kennedy',
333 *Brachiaria brizantha* cv. 'Marandu' and *Brachiaria decumbens* cv. 'Basilisk'. Los contenidos
334 de FDN, FDA y Lignina son consistentes a los reportados por Hughes et al., (2017) para el
335 género *Braharia* y *Megathysrsus* (19).

336 Los valores de degradación in vitro de la materia seca y contenido de proteína cruda para *M.*
337 *maximus* son similares a los reportados por Homen et al., (2010)(20), mientras que los valores
338 de FDN, FDA, lignina y cenizas fueron menores a los reportados por Gaviria et al., (2015)
339 para pasturas de *M. maximus*. Esto debido posiblemente a que en este trabajo sólo se muestreó
340 el forraje a los 45 días de rebrote donde se tiene un alto contenido de pared celular(21).

341 Los coeficientes de determinación encontrados para el modelo de predicción en los distintos
342 componentes proximales y DIVMS en todas las especies (Tabla 10) son comparables a los
343 reportados por Hughes et al., (2014) y Hughes et al., (2017), Los cuales correlacionaron la
344 reflectancia medida a 660, 840, 650 y 960 nm de pasturas frescas (*B. decumbens* Cv. *Basilisk*,
345 *B. hibrido* Cv *mulato II* y *M. maximus* Cv.*Mombasa*) con propiedades de composición

346 química (FDN, FDA, PC, lignina) y degradación in vitro de la materia orgánica, sin embargo,
347 es importante indicar que en estos experimentos se encontraron relaciones de tipo cuadrática
348 entre las variables relacionadas (19, 22) debido a factores no reportados en el estudio.

349 Adicional a la variabilidad en la composición de las muestras, la calibración de métodos
350 espectroscópicos para analizar plantas debe apoyarse en variaciones ópticas debidas a su
351 composición química. Starks et al., (2006) indican que el contenido de FDN del pasto
352 bermuda (*Cynodon dactylon*) se correlaciona de forma positiva con la absorción de luz azul
353 (450-520 nm), verde (520-600nm) y roja (630-690 nm), reportando coeficientes de
354 determinación de 0.33 0.188 y 0.416 para cada tipo de luz respectivamente, sin embargo,
355 estos mismos autores reportan una correlación negativa entre la absorción de luz en bandas
356 cercanas al rojo (690-740 nm) y el infrarrojo cercano (760- 900) con el contenido de FDN en
357 el mismo pasto de -0.45 y -0.467 para tipo de banda respectivamente(23).

358 Para el caso de la FDA, Starks et al., (2006) indicaron una relación positiva de esta fracción
359 química con la absorción de luz azul y roja (0.223 y 0.29 respectivamente) y una correlación
360 negativa con la absorción de luz verde, bandas cercanas al rojo e infrarrojo cercano (-0.051,
361 -0.37,-0.34 respectivamente) las cuales son considerablemente más bajas a las encontradas
362 en el presente estudio con información combinada de diferentes bandas de luz (Tabla 11).

363 El origen de esas inconsistencias en los niveles de asociación entre variables ópticas y
364 químicas encontradas por investigadores podrían deberse a condiciones no reportadas por
365 ellos.

366 Por otra parte, en cuanto al desempeño del sistema AFT comparado con equipos comerciales
367 de gama alta, los coeficientes de determinación encontrados al estimar aquí el contenido de

368 FDN y FDA, los valores son consistentes con los reportados por Monrroy et al., (2017) para
369 el género *Bracharia* (0.87 y 0.88 respectivamente) utilizando un equipo NIRS. Valores de
370 RMSEP reportado para las mismas fracciones químicas (1.71 y 1.36, respectivamente) fueron
371 similares a los encontrados para la FDN en las especies *B. Brizantha*, *B. ruziciensis* y *B.*
372 *decumbens* en el presente estudio (Tabla 14) y similares a los encontrados para todas las
373 especies en la FDA con excepción de *B. Humidicola* donde se obtuvo un valor mayor (2.95).

374 El R^2 de predicción reportado por Monrroy et al., (2017) para el contenido de FDN y FDA
375 (0.86 y 0.90 respectivamente), fue similar a los encontrados en el presente estudio para las
376 especies *B. dictyoneura* (R²p FDN: 0.78 y FDA: 0.98), *M. maximus* (R²p FDN: 0.85 y FDA:
377 0.83), *B. Brizantha* (R²p FDN: 0.68 y FDA: 0.88) y *B. decumbens* (R²p FDN: 0.68 y FDA:
378 0.89). Las demás especies presentaron R^2 más bajos debido posiblemente a diferencias
379 propias en los equipos de cuantificación y al menor número de muestras utilizado para la
380 construcción y validación de los modelos (figura 4).

381 La presencia de clorofila en hojas de plantas también asegura la generación de patrones
382 espectroscópicos que permiten estimar indirectamente la composición química de forrajes en
383 el sistema AFT. Se presume que aproximadamente el 80% del nitrógeno presente en las hojas
384 se aloja en los cloroplastos y del 0,5 – 1,5 % del nitrógeno total se encuentra asociado a la
385 clorofila (24), dicha información ha servido como base para realizar modelos de calibración
386 que permitan asociar el contenido de clorofila con el contenido total de nitrógeno de las
387 plantas.

388 El contenido de clorofila se asocia negativamente con la reflectancia de la banda de 660 nm
389 por la alta absorción de las moléculas de clorofila A (25), y su contenido podría ser mayor

390 en tejidos tiernos, pero completamente desarrollados. Por el contrario, la banda de 840nm no
391 es afectada por el contenido de clorofila (26) pero si por la presencia de ceras y tricomas(27)
392 que podrían variar en las muestras según la edad del pasto.

393 Los hallazgos mencionados anteriormente son consistentes con los reportados por Starks et
394 al., (2006) quienes indican que el contenido de PC muestra una relación inversa con la
395 absorción de luz azul, verde y roja (-0.515,-0.386,-0.535 respectivamente), y una relación
396 positiva con la absorción de luz cercada al rojo y el infrarrojo cercano (0.584 y 0.626
397 respectivamente), siendo estos valores muchos más bajos a los encontrados en el presente
398 estudio para modelos de predicción obtenidos de información combinada de 16 bandas de
399 luz (tabla 11)(23).

400 Los coeficientes de determinación del modelo de predicción encontrados aquí (Tabla 10)
401 para el contenido de PC en las especies del género *Bracharia* (R^2 : 0.65), son similares e
402 incluso mayores en las especies *B. Brizantha* (0.91), *B. dictyoneura*(0.84) y *B. decumbens*
403 (0.96) a los reportados por Monrroy et al., 2017 quienes utilizaron el sistema NIRS para la
404 estimación del contenido de PC. Por otro lado, los valores de R^2_p fueron mayores a los
405 reportados por los mismos autores para el contenido de PC (R^2_p :0.53) en todas las especies
406 (figura 4). sin embargo, el valor de RMSEP reportado en el ya mencionado estudio es más
407 bajo (0.71) a los obtenidos para este análisis en todas las especies con excepción de *B.*
408 *decumbens* donde se obtuvo un valor de 0.72.

409 El error estándar del modelo de predicción (SEP) (Tabla 13) fue mayor en todas las fracciones
410 químicas y especies a los reportados por Thomson et al., 2018, quienes correlacionaron la
411 composición química y degradación de silos mezclados de pastos y leguminosas con la

412 reflectancia en el infrarrojo cercano, en este estudio se reportaron valores de SEC para el
413 contenido de FDN, FDA, cenizas y degradación in-vitro de materia orgánica de 13.4, 18.5,
414 10.4 y 3.1 respectivamente(28), sin embargo los valores de R^2 de validación fueron
415 considerablemente más altos a pesar de solo haber utilizado 10 muestras para este análisis
416 cuando se comparan con los obtenido en el sistema AFT.

417 Cleland et al., (2018) correlacionaron la reflectancia en el infrarrojo medio de muestras de
418 pasto Ryegrass, trébol blanco y sus mezclas con la composición química obtenida por
419 metodologías analíticas(29), encontrando coeficientes de determinación de calibración y
420 validación mayores a los encontrados con la cámara AFT (R^2 de calibración 0.85 ,0.95, 0.85
421 R^2 de validación 0.76, 0.91 y 0.8 para los contenidos de PC, FDN y FDA respectivamente),
422 sin embargo el cuadrado medio del error de predicción obtenido por Cleland et al., 2018 (21.4
423 32.4 y 26.3 para los contenidos de PC, FDN y FDA respectivamente) fue mayor a los
424 obtenidos con la cámara AFT para todas las especies (tabla 13).

425 Vázquez de Aldana (1996) correlacionó el contenido de Cenizas de pasturas en regiones
426 semiáridas con la absorción de luz en el infrarrojo cercano utilizando el equipo NIRS,
427 reportando un R^2 de calibración de 0.88 el cual es menor al encontrado para *B. brizantha* y
428 mayor al de las demás especies evaluadas en el presente estudio (tabla 4), por su parte el error
429 estándar del modelo de predicción fue similar la encontrado por Vázquez de Aldana (1996)
430 (0.46) en todas las especies evaluadas (Tabla 6), sin embargo el R^2 de validación reportado
431 en dicho estudio (0.94) fue considerablemente más bajo al encontrado para las distintas
432 especies cuando se utilizó la cámara AFT.

433 Starks et al., (2006) y Hughes et al., (2017) señalan que actualmente existen pocos estudios
434 que relacionen la composición química de gramíneas tropicales con propiedades ópticas,
435 especialmente en fracciones relacionadas con la pared celular (FDN, FDA y lignina). Muestra
436 de ello es que a la fecha solo se cuenta con tres estudios que correlacionan las mediciones
437 ópticas (estimadas con equipos diseñados para estimar la clorofila los cuales miden la
438 absorción de luz a 660, 840, 650 y 960 nm) con distintos componentes de la fibra y la
439 degradación de la materia orgánica en pasturas tropicales (19). En el primer estudio llevado
440 a cabo por Hughes et al. (2014) se encontraron coeficientes de correlación para estimar el
441 contenido de lignina que varían entre 0.16 y 0.66 y entre 0.5 y 0.78 para las estimaciones de
442 la degradación in vitro de la materia orgánica. En el segundo trabajado llevado a cabo por
443 Hughes et al., 2017 el coeficiente de correlación para la estimación de la FDN estuvo entre
444 0.45 y 0.79, entre 0.08 y 0.79 para la determinación de la FDA y entre 0.14 y 0.58 para la
445 estimación de lignina(19). Finalmente, en el último trabajo llevado a cabo por Monrroy et
446 al., 2017 en el cual a diferencia de los dos trabajos anteriores se utilizó un NIRS para estimar
447 las propiedades químicas en *Brachiaria sp.* se encontró un coeficiente de correlación de 0.85
448 para la estimación de la FDN, 0.91 para la FDA y 0.99 para el contenido de celulosa(18).

449 Al comparar los resultados con la cámara AFT con algunos trabajos donde se usa la
450 tecnología NIRS para la estimación de la composición química de algunas materias primas
451 comúnmente usadas en la alimentación del ganado en climas templados y sistemas de
452 estabulación intensivos(30-33), se puede observar que los coeficientes de correlación son
453 considerablemente más bajos con el uso del sistema AFT, esto debido posiblemente al
454 pequeño número de muestras utilizadas en este trabajo para realizar las calibraciones y a los
455 modelos estadísticos por los que establecieron los coeficientes de asociación(34).

456 Es importante reconocer que los sistemas NIRS permiten estimar de forma precisa
457 propiedades químicas de interés en la alimentación de rumiantes (35), y se han establecido
458 bien entre numerosas comunidades como el sistema estándar de estimación química sin
459 contacto. Pero también es necesario reconocer que su alto costo limita su utilización masiva
460 por productores y científicos alrededor del mundo, caso contrario a lo que sucede con equipos
461 de desarrollo local como la cámara AFT, donde sus componentes ópticos y de iluminación
462 son muy comunes y económicos, ya que están incorporados a una gran cantidad de productos
463 de consumo masivo y uso diario, como cámaras fotográficas digitales o sistemas de
464 iluminación LED, lo cual disminuye en un alto porcentaje el costo de los equipos.

465 La estimación sistemática de las propiedades químicas de importancia en la alimentación de
466 rumiantes permite realizar ajustes a la dieta basados en las condiciones reales de cada centro
467 de producción(36). Esto maximiza la producción animal y la disminución en el uso de
468 suplementos externos como concentrados que reducen considerablemente la rentabilidad de
469 los sistemas ganaderos tropicales. Solo al determinar estas variables en forma intensiva
470 podrán construirse modelos cuantitativos y eficientes de manejo de las pasturas y ganado, lo
471 cual será casi imposible si no se dispone de sistemas analíticos económicos, confiables y
472 fáciles de operar (37).

473 El sistema AFT puede ser personalizado para facilitar el uso por operarios poco entrenados
474 y no necesita de habilidades especiales o diferentes a las que se requiere para usar un
475 computador. Aunque la calibración inicial depende de la realización de un número adecuado
476 de análisis de forrajes por métodos estándar y el desarrollo de modelos de regresión, el
477 análisis posterior de cada muestra podría requerir menos de cinco minutos y se podría usar

478 en los centros de producción para tomar decisiones con impactos económicos y nutrimentales
479 en tiempo real.

480 Las estadísticas económicas indican que los países latinoamericanos dependen en un alto
481 porcentaje de exportaciones de materias primas con bajo nivel de inversión tecnológica(38),
482 por lo que los sistemas de espectroscopía de bajo costo y de desarrollo local se perfilan como
483 una herramienta para mejorar la competitividad y rentabilidad de los sistemas de producción
484 agropecuarios. Con el uso masivo de estas tecnologías se reduciría notablemente la
485 dependencia de tecnologías desarrolladas para otros ambientes (climas templados
486 generalmente) cuyo soporte y mantenimiento son limitados y costosos en los países de
487 América Latina.

488 **Conclusión**

489 Los mejores grados de asociación entre los valores de gris y la composición química obtenida
490 por métodos analíticos estándar (tanto en la calibración como en la validación del equipo) se
491 obtuvieron con el contenido de PC y DIVMS, las demás fracciones químicas presentaron una
492 gran variabilidad en la respuesta del equipo asociada a la especie, sin embargo, no se
493 observaron diferencias estadísticamente significativas entre los valores de composición
494 química estimados con la cámara AFT y con métodos estándar de química analítica. La
495 calibración del sistema AFT desarrollada en este trabajo permitió estimar de forma rápida y
496 con un grado de precisión intermedio, propiedades químicas que son de interés en la
497 alimentación de rumiantes en las gramíneas tropicales *Brachiaria* y *Megathyrus*, lo cual
498 permitirá a productores y técnicos tomar decisiones de impacto económico y productivo
499 basado en datos reales y confiables.

500 Bibliografia

- 501 1. FAO, editor How to feed the world in 2050. Rome: High-Level Expert Forum; 2009.
- 502 2. Le Mouél C, Forslund A. How can we feed the world in 2050? A review of the
503 responses from global scenario studies. *European Review of Agricultural Economics*.
504 2017;44(4):541-91.
- 505 3. Charmley E, Williams SRO, Moate PJ, Hegarty RS, Herd RM, Oddy VH, et al. A
506 universal equation to predict methane production of forage-fed cattle in Australia. *Animal*
507 *Production Science*. 2016;56(2-3):169-80.
- 508 4. Perry LA, Al Jassim R, Gaughan JB, Tomkins NW. Effect of feeding forage
509 characteristic of wet-or dry-season tropical C4 grass in northern Australia, on methane
510 production, intake and rumen outflow rates in *Bos indicus* steers. *Animal Production Science*.
511 2017;57(10):2033-41.
- 512 5. Van Soest PJ, Robertson JB, Lewis BA. Methods for Dietary Fiber, Neutral Detergent
513 Fiber, and Nonstarch Polysaccharides in Relation to Animal Nutrition. *Journal of Dairy*
514 *Science*. 1991;74(10):3583-97.
- 515 6. Park RS, Agnew RE, Gordon FJ, Steen RWJ. The use of near infrared reflectance
516 spectroscopy (NIRS) on undried samples of grass silage to predict chemical composition and
517 digestibility parameters. *Animal Feed Science and Technology*. 1998;72(1-2):155-67.
- 518 7. Norris K, Barnes R, Moore J, Shenk J. Predicting forage quality by infrared
519 reflectance spectroscopy. *Journal of animal science*. 1976;43(4):889-97.
- 520 8. Jones PD, Schimleck LR, Peter GF, Daniels RF, Clark A. Nondestructive estimation
521 of wood chemical composition of sections of radial wood strips by diffuse reflectance near
522 infrared spectroscopy. *Wood Science and Technology*. 2006;40(8):709-20.

-
- 523 9. Kamruzzaman M, ElMasry G, Sun D-W, Allen P. Non-destructive prediction and
524 visualization of chemical composition in lamb meat using NIR hyperspectral imaging and
525 multivariate regression. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 2012;16:218-
526 26.
- 527 10. Parrini S, Acciaioli A, Crovetto A, Bozzi R. Use of FT-NIRS for determination of
528 chemical components and nutritional value of natural pasture. *Italian Journal of Animal
529 Science*. 2017:1-5.
- 530 11. Pineda TDM. Diseño, construcción y evaluación de un fluorímetro y una cámara
531 multiespectral para uso en agricultura y biología: Universidad Nacional de Colombia-Sede
532 Medellín; 2017.
- 533 12. Horwitz W. Official methods of analysis of AOAC International. Volume I,
534 agricultural chemicals, contaminants, drugs/edited by William Horwitz: Gaithersburg
535 (Maryland): AOAC International, 1997.; 2010.
- 536 13. Theodorou MK, Williams BA, Dhanoa MS, McAllan AB, France J. A simple gas
537 production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of
538 ruminant feeds. *Animal Feed Science and Technology*. 1994;48(3):185-97.
- 539 14. Racine JS. RStudio: a platform-independent IDE for R and Sweave. *Journal of
540 Applied Econometrics*. 2012;27(1):167-72.
- 541 15. Stuth J, Jama A, Tolleson D. Direct and indirect means of predicting forage quality
542 through near infrared reflectance spectroscopy. *Field Crops Research*. 2003;84(1-2):45-56.
- 543 16. Reid J, Kennedy W, Turk K, Slack S, Trimmer G, Murphy R. Effect of Growth
544 Stage, Chemical Composition, and Physical Properties upon the Nutritive Value of Forages1.
545 *Journal of Dairy Science*. 1959;42(3):567-71.

-
- 546 17. Herrero M, do Valle CB, Hughes NRG, Sabatel VdO, Jessop NS. Measurements of
547 physical strength and their relationship to the chemical composition of four species of
548 *Brachiaria*. 2001;92(3):149-58.
- 549 18. Monroy M, Gutiérrez D, Miranda M, Hernández K, Renán J. Determination
550 of *Brachiaria* spp. forage quality by
551 near-infrared spectroscopy and partial least squares regression. *Journal of the Chilean*
552 *Chemical Society*. 2017;62:3472-7.
- 553 19. Hughes MP, Mlambo V, Lallo CHO, Basha NAD, Nsahlai IV, Jennings PGA.
554 Accuracy of two optical chlorophyll meters in predicting chemical composition and in vitro
555 ruminal organic matter degradability of *Brachiaria* hybrid, *Megathyrsus maximus*, and
556 *Paspalum atratum*. *Animal Nutrition*. 2017;3(1):67-76.
- 557 20. Homen M, Entrena I, Arriojas L, Ramia M. Biomasa y valor nutritivo del pasto
558 *Guinea Megathyrsus maximus* (Jacq.) BK Simon & SWL Jacobs. 'Gamelote en diferentes
559 períodos del año en la zona de bosque húmedo tropical, Barlovento, estado Miranda.
560 *Zootecnia Tropical*. 2010;28(2):255-66.
- 561 21. Gaviria X, Rivera JE, Barahona R. Calidad nutricional y fraccionamiento de
562 carbohidratos y proteína en los componentes forrajeros de un sistema silvopastoril intensivo.
563 *Pastos y Forrajes*. 2015;38:194-201.
- 564 22. Hughes MP, Wuddivira MN, Mlambo V, Jennings PGA, Lallo CHO. Non-destructive
565 foliar chlorophyll measurement has the potential to predict crude protein concentration and
566 in vitro ruminal organic matter digestibility in *Bracharia decumbens* herbage.
567 2014;195(Supplement C):14-27.

-
- 568 23. Starks P, Zhao D, Phillips W, Coleman S. Herbage mass, nutritive value and canopy
569 spectral reflectance of bermudagrass pastures. *Grass and Forage Science*. 2006;61(2):101-
570 11.
- 571 24. Xiong D, Chen J, Yu T, Gao W, Ling X, Li Y, et al. SPAD-based leaf nitrogen
572 estimation is impacted by environmental factors and crop leaf characteristics. *Scientific*
573 *reports*. 2015;5.
- 574 25. Jacquemoud S, Baret F. PROSPECT: A model of leaf optical properties spectra.
575 *Remote sensing of environment*. 1990;34(2):75-91.
- 576 26. Ahmad IS, Reid JF, Noguchi N, Hansen AC, editors. Nitrogen sensing for precision
577 agriculture using chlorophyll maps. ASAE Meeting Presentation; 1999.
- 578 27. Zheng S, Shanguan Z. Spatial patterns of photosynthetic characteristics and leaf
579 physical traits of plants in the Loess Plateau of China. *Plant Ecology*. 2007;191(2):279-93.
- 580 28. Thomson A, Humphries D, Rymer C, Archer J, Grant N, Reynolds C. Assessing the
581 accuracy of current near infra-red reflectance spectroscopy analysis for fresh grass-clover
582 mixture silages and development of new equations for this purpose. *Animal Feed Science*
583 *and Technology*. 2018;239:94-106.
- 584 29. Cleland JD, Johnson E, Morel PC, Kenyon PR, Waterland MR. Mid-infrared
585 reflectance spectroscopy as a tool for forage feed composition prediction. *Animal Feed*
586 *Science and Technology*. 2018;241:102-11.
- 587 30. De Boever J, Cottyn B, Vanacker J, Boucqué CV. The use of NIRS to predict the
588 chemical composition and the energy value of compound feeds for cattle. *Animal Feed*
589 *Science and Technology*. 1995;51(3-4):243-53.

-
- 590 31. Jung H-JG. Analysis of forage fiber and cell walls in ruminant nutrition. *The Journal*
591 *of nutrition*. 1997;127(5):810S-3S.
- 592 32. Fan X, Tang S, Li G, Zhou X. Non-Invasive Detection of Protein Content in Several
593 Types of Plant Feed Materials Using a Hybrid Near Infrared Spectroscopy Model. *PloS one*.
594 2016;11(9):e0163145.
- 595 33. Shen G, Han L, Fan X, Liu X, Cao Y, Yang Z. Classification of fish meal produced
596 in China and Peru by online near infrared spectroscopy with characteristic wavelength
597 variables. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*. 2017;25(1):63-71.
- 598 34. Fontaine J, Schirmer B, Hörr J. Near-infrared reflectance spectroscopy (NIRS)
599 enables the fast and accurate prediction of essential amino acid contents. 2. Results for wheat,
600 barley, corn, triticale, wheat bran/middlings, rice bran, and sorghum. *Journal of agricultural*
601 *and food chemistry*. 2002;50(14):3902-11.
- 602 35. Park HS, Lee SH, Choi KC, Lim YC, Kim JH, Lee KW, et al. Prediction of the
603 Chemical Composition and Fermentation Parameters of Winter Rye Silages by Near Infrared
604 Spectroscopy. *한국초지조사료학회지*. 2014;34(3):209-13.
- 605 36. VAN SOEST P. *Nutritional ecology of the ruminant*. Washington, Cornell
606 University Press, 476p; 1994.
- 607 37. Doble RL, Lancaster JA, Holt EC. Forage Characteristics Limiting Animal
608 Performance on Warm-season Perennial Grasses¹. *Agronomy Journal*. 1971;63(5):795-8.
- 609 38. CEPAL N. *La nueva revolución digital: de la Internet del consumo a la Internet de la*
610 *producción*. 2016.

611 39. Shepherd, K. D., & Walsh, M. G. (2007). Infrared spectroscopy—enabling an evidence-
612 based diagnostic surveillance approach to agricultural and environmental management in
613 developing countries. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, 15(1), 1-19.

614

5. Conclusiones

- La alta variabilidad en la composición química de las gramíneas cosechadas permitió la elaboración de modelos estadísticos de regresión múltiple que permitieron estimar el contenido de FDN, FDA, Lignina, cenizas, PC y DIVMS en gramíneas de los géneros *Bracharia* y *Megathyrus*.
- Los mejores grados de asociación entre los valores de gris y la composición química obtenida por métodos analíticos estándar (tanto en la calibración como en la validación del equipo) se obtuvieron con el contenido de PC y DIVMS, las demás fracciones químicas presentaron una gran variabilidad en la respuesta del equipo asociada a la especie.
- No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los valores de composición química estimados con la cámara AFT y con métodos estándar de química analítica.
- La cámara AFT permitió estimar de forma rápida y con un grado de precisión moderado compuestos químicos que son de interés en la nutrición de rumiantes en 6 gramíneas de pastos tropicales.

Anexo 1: Rutina de R utilizada para la obtención de los modelos de predicción para el caso de este trabajo.

```
#####to detect outliers-----
julian<-read.csv2("solobra.csv", header = TRUE)
str(julian)
attach(julian)
outlier_values <- boxplot.stats(DIMS)$out # outlier values.
boxplot(DIMS, main="DIVMS", boxwex=0.1)
mtext(paste("Outliers: ", paste(outlier_values, collapse=" ")), cex=0.6)
#####imputation of missing values-----

random.imp <- function (a){
  missing <- is.na(a)
  n.missing <- sum(missing)
  a.obs <- a[!missing]
  imputed <- a
  imputed[missing] <- sample (a.obs, n.missing, replace=TRUE)
  return (imputed)}
DIMS<-random.imp(DIMS)
DIMS
is.na(FDA)
summary(FDA)
#REGRESSION STEPWISE####
julian<-read.csv2("solobra.csv", header = TRUE)
str(julian)
###correlation-----
corre<-julian[,c(2:24)]
corre<-na.omit(corre)
library(corrplot)
correlation=cor(corre)
which(is.na(corre))
```

```

correlation
par(mfrow=c(1,1))
col <- colorRampPalette(c("white","dark grey"))
corrplot(correlation, method="color", col=col(150),type="upper", order="hclust", addCoef.col =
"black",tl.col="black", tl.srt=25, p.mat = NULL, sig.level = 0.05, insig = "blank",diag=FALSE )
args(p.mat)
corrplot(correlation, method="circle",insig = "blank" )
corrplot.mixed(correlation)
corrplot(corre, p.mat = res1[[1]], insig = "blank")
# All Subsets Regression
library(leaps)
attach(corre)
leaps<-
regsubsets(DIMS~X428nm+X445nm+X465n+X493nm+X525nm+X560nm+X590nm+X607nm+X
630nm+X650nm+X730nm+X780nm+X840nm+X850nm+X870nm+X910nm+X940nm,data=corre,
nbest=10)
# view results
summary(leaps)
# plot a table of models showing variables in each model.
# models are ordered by the selection statistic.
plot(leaps,scale="r2")
# plot statistic by subset size
library(car)
subsets(leaps, statistic="rsq")
library(MASS)
fit
                                                                                                     <-
lm(DIMS~X428nm+X445nm+X465n+X493nm+X525nm+X560nm+X590nm+X607nm+X630nm
+X650nm+X730nm+X780nm+X840nm+X850nm+X870nm+X910nm+X940nm,data=corre)
summary(fit)
step <- stepAIC(fit, direction="both")
step$anova # display results
###best equation-----
fit2<-lm(DIMS~ X493nm +X525nm + X590nm +X730nm, data = corre)
summary(fit2)

```

```
plot(fit2)
pre <- predict(fit2)
pre
fit3<-lm(FDA ~ pre, data=corre)
summary(fit3)
plot2 <- ggplot(corre, aes(x=pre, y=FDN)) + geom_point(shape=1) + geom_smooth(method=lm)+
scale_x_continuous(name = "predichos") +
scale_y_continuous
```

Anexo 2: Base de datos de la composición química de *B. ruzizensis* realizada durante este estudio

MUESTRA	CENIZAS	PC	FDN	FDA	LIGNINA	DIMS
98945	2.56	13.07	68.11	36.32	6.9923	49.21
98944	2.88	11.83	66.95	33.69	5.1311	53.72
98943	2.99	13.03	65.36	32.25	4.8008	45.67
98942	2.63	9.75	67.91	33.84	5.2467	48.92
98941	2.78	13.77	63.58	31.29	4.0535	58.44
98940	2.96	12.89	66.06	32.74	4.1203	50.83
98939	3	13.01	63.53	31.31	4.3024	53.9
98938	1.83	9.25	69.74	35.74	4.801	47.46
98936	3.01	11.03	68.74	35.49	4.576	47.34
98935	2.91	10.44	68.78	35.43	4.6787	44.89
98934	3.11	9.5	68.83	34.66	4.8479	47.89
98933	3.06	15.96	69.96	33.59	3.9906	47.62
98932	2.9	14.59	71.47	32.73	3.6822	44.15
98931	3.53	13.89	69.49	32.95	3.7573	48.29
98920	3.06	11.58	57.64	25.82	4.3272	60.7
98919	3.05	12.55	60.72	28.09	4.7006	49.24
98918	2.89	16.11	57.38	24.71	4.0031	68.18
98917	2.93	17.36	60.25	27.79	3.6462	53.65
98916	3.08	16.9	57.08	26.34	3.9505	56.2
98915	2.86	15.69	61.49	28.65	3.4738	52.74
98914	2.86	15.45	60.66	27.7	3.5638	57.49
98913	2.72	14.88	61.19	30.4	4.3691	52.53
98912	2.62	12.67	68.71	36.16	5.0429	51.21
98911	2.54	10.91	65.79	35.95	4.8257	52.71
98910	2.69	11.92	64.81	31.59	3.6928	56.52
98581	11.62	19.76	56.81	25.06	3.17	
98580	13.16	11.96	62.16	31.34	3.67	
98579	10.58	11.62	64.44	30.73	3.5	
98578	10.34	11.54	66.28	30.89	4.08	
98554	12.75	14.16	65.12	30.74	3.18	
98553	11.86	22.45	48.49	19.07	2.79	
98552	14.56	16.97	55.34	23.67	3.35	
98551	12.07	15.92	56.57	23.68	3.18	

Anexo 3: Base de datos de los valores de gris de *B. ruzizensis* en estudio

428nm	445nm	465nm	493nm	525nm	560nm	590nm	607nm	630nm	650nm	730nm	780nm	840nm	850nm	870nm	910nm	940nm
39.43	68.89	78.44	73.67	112.95	50.07	168.66	145.74	141.47	145.68	163.97	157.64	180.01	159.87	172.06	129.37	134.68
40.29	51.16	76.49	73.9	114.25	49.14	168.32	147.57	140.76	144.94	165.32	163.64	188.48	167.43	179.48	137.09	142.99
39.29	51.03	78.27	71.89	112.54	49.44	166.22	147.45	140.57	141.92	164.2	164.28	185.02	166.84	178.75	136.47	141.79
39.64	53.48	83.38	78.75	121.78	52.03	178.26	151.43	145.81	151.15	171.91	166.71	188.07	166.82	178.72	135.48	141.13
36.56	50.88	76.99	71.82	110.38	48.49	167.31	144.92	137.67	143.79	160.18	168.91	194.28	174.99	188	145.53	151.83
37.72	49.86	77.41	74.71	114.13	50.68	170.93	148.6	139.8	142.45	164.32	172.73	198.13	176.87	190.91	146.93	153.02
40.8	48.64	79.11	73.04	114.04	51.08	171.78	148.62	146.03	146.95	165.62	171.72	196.79	177.08	190.41	146.92	151.12
39.94	52.86	84.54	78.48	122.27	51.57	179.38	153.66	147.65	151.22	172.58	171.19	194.25	172.63	186.04	142.61	147.74
38.98	51.04	79.75	73.45	115.58	49.53	171.25	148.02	139.9	143.55	163.42	169.83	197.18	175.25	188.4	144.97	150.24
36.35	52.11	80.56	76.86	118.7	50.26	172.04	149.39	147.81	146.13	171.7	171.2	194.29	174.74	187.2	143.46	148.73
37.9	51.92	81.39	76.13	116.98	50.47	175.1	150.91	148.53	147.69	165.76	169.76	191.31	172.56	185.43	142.33	147.32
39.2	48.43	71.04	66.59	102.44	46.58	149.66	136.93	132.09	136.69	151.31	155.84	182.62	161.84	175.82	134	141.11
37.86	47.73	71.32	67.02	103.1	47.04	152	137.91	130.82	134.78	153.35	158.93	183.14	166.76	180.49	137.31	143.62
38.01	45.65	73.76	68.48	107.15	47.41	157.27	139.83	136.08	136.44	155.89	160.9	188.68	166.16	179.72	136.96	142.76
38.81	53.84	82.72	76.74	120.59	51	177.27	154.9	146.66	150.06	172.35	169.9	189.71	170.02	182.95	138.83	143
39.43	51.45	80.63	75.42	116.66	50.52	171.96	149.52	142.49	149.21	170.63	166.85	188.73	169.12	181.49	138.1	144.19
39.7	48.55	76.54	74.58	116.11	49.85	171.98	147.44	140.83	146.2	169.15	170.1	194.9	172.66	185.06	141.06	147.7
38.95	52.36	79.82	74.54	113.82	50	169.33	146.63	142.16	142.6	161.52	168.3	193.26	175.64	188.75	145.39	151.69
39.38	52.23	80.76	76.28	116.67	50.58	171.28	150.16	144.28	144.71	165.08	171.31	197.91	175.38	188.09	144.59	150.38
39.68	51.03	76.6	71.67	111.71	49.48	166.08	146.14	137.88	142.28	162.9	169.79	196.6	174.62	188.77	145.64	152.01
38.27	50.83	73.76	71.87	110.81	49.27	168.46	147.91	145.18	142.98	161.15	170.31	196.37	175.52	188.68	145.59	151.13

428n m	445n m	465n	493n m	525n m	560n m	590n m	607n m	630n m	650n m	730n m	780n m	840n m	850n m	870n m	910n m	940n m
39.38	52.23	80.76	76.28	116.67	50.58	171.28	150.16	144.28	144.71	165.08	171.31	197.91	175.38	188.09	144.59	150.38
39.68	51.03	76.6	71.67	111.71	49.48	166.08	146.14	137.88	142.28	162.9	169.79	196.6	174.62	188.77	145.64	152.01
38.27	50.83	73.76	71.87	110.81	49.27	168.46	147.91	145.18	142.98	161.15	170.31	196.37	175.52	188.68	145.59	151.13
39.2	51.37	78.31	69.36	110.56	48.09	165.15	144.53	139.68	139.53	155.22	169.79	198.09	177.76	190.34	147.08	152.74
36.76	52.19	81.61	73.87	116.03	50.74	172.25	150.1	144.12	145.39	163.06	173.89	200.2	179.77	193.02	148.92	155.12
38.76	50.39	79.23	73.25	112.65	49.14	167.81	147.38	141.62	143.37	159.28	168.84	193.48	173.49	185.16	141.99	147.31
39.91	51.66	79.4	73.67	113.48	50.11	170.46	147.22	146.84	143.3	158.68	172.99	197.45	178.22	191.33	147.05	152.32
38.67	47.52	69.51	67.17	104.03	47.08	155.07	140.48	134.44	136.78	161.08	163.12	188.84	168.4	181.26	138.66	144.91
37.87	49.85	74.88	74.53	116.2	49.17	170.82	147.38	143.55	145.34	174.24	171.29	198.42	175.44	186.92	143.34	148.77
37.88	49.02	73.89	72.43	113.87	48.2	164.84	144.85	141.1	143.12	169.86	168.63	193.14	169.32	182.72	138.74	144.02
39.15	50.97	76.89	72.78	113.09	47.31	165.6	145.54	139.45	141.93	166.48	160.6	183.81	162.67	174.99	132.83	138.36
39.69	50.34	74.74	71.38	109.96	48.19	165.19	145.85	143.68	146.08	160.97	153.68	175.47	154.86	166.57	125.03	132.99
38.32	47.61	67.45	65.08	100.63	46.8	150.21	137.34	132.06	137.45	152.65	156.86	182.12	161.01	173.44	131.03	138.38
41.02	44.68	68.56	65.11	103.43	44.1	152.16	138.99	135.78	135.55	162.04	164.11	188.35	167.79	181.06	137.62	144.38