

Predicción de la calidad de la dieta del rebeco (*Rupicapra pyrenaica*) mediante NIRS

Suitability of NIRS analysis for estimating diet quality
of pyrenean chamois (*Rupicapra pyrenaica*)

A.L. GÁLVEZ CERÓN^{1*} / E. SERRANO FERRON² / J. BARTOLOMÉ FILELLA¹ /
G. MENTABERRE² / X. FERNÁNDEZ AGUILAR² / L. FERNÁNDEZ SIRERA² /
N. NAVARRO GONZALEZ² / J.R. LÓPEZ OLVERA² / S. LAVÍN² / I. MARCO² / E. ALBANELL¹

¹ Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Universitat Autònoma de Barcelona (UAB), E-08193, Bellaterra, Barcelona, Spain.

*ArturoLeonel.Galvez@uab.cat

² Servei d' Ecopatologia de Fauna Salvatge (SEFaS), Departament de Medicina i Cirurgia Animals, Universitat Autònoma de Barcelona (UAB), E-08193, Bellaterra, Barcelona, Spain.

Resumen: Durante más de seis décadas, el nitrógeno fecal (Nf) ha sido un indicador frecuentemente utilizado para estimar la calidad de la dieta de herbívoros salvajes. La gran estabilidad del Nf posibilita el estudio de las variaciones estacionales y espaciales en la calidad de la dieta de ungulados que habitan en ambientes extremos, como el rebeco. Además, el Nf puede predecirse fácilmente mediante ecuaciones NIRS, aunque no existen referencias en las que se aplique dicha técnica. El objetivo del estudio fue desarrollar y evaluar un modelo de regresión NIRS que permita predecir de forma rápida y eficaz la calidad de la dieta del rebeco. Para ello se recolectaron 192 muestras de heces, desde mayo 2009 hasta septiembre 2010, en dos zonas alpinas de la reserva nacional de caza de Freser-Setcases (Pirineo catalán): Costabona y Fontalba. Se analizaron por el método tradicional DUMAS/LECO como método de referencia y se recogió su información espectral en un equipo NIRSystems 5000 (FOSS). Se evaluaron diferentes tratamientos matemáticos para el desarrollo de los modelos de predicción. Puesto que los patrones estacionales de Nf difirieron entre las dos localidades, se comparó la calibración obtenida usando el global de muestras con las calibraciones individuales de cada zona muestreada. Aunque las calibraciones parciales obtenidas mejoran algunos estadísticos, la calibración global obtenida ($R^2=0,97$; $SEC=0,076$; $r^2=0,97$; $SEP=0,109$) es suficientemente robusta, garantizando la predicción adecuada del Nf. Los resultados obtenidos indican que la tecnología NIRS evalúa con exactitud y precisión el contenido en Nf en heces de rebecos.

Palabras clave: calidad nutricional, heces, infrarrojo cercano, ungulados, ecosistema alpino.

Abstract: For more than six decades, Faecal Nitrogen (FN) has been one of the most used proxy for diet quality in wild ungulates. The FN is very stable under environmental conditions, allowing the study of both seasonal and spatial variations of diet quality in extreme seasonal ecosystems. Moreover, FN would be easily predicted by NIRS, but to our current knowledge, no work reports the use of NIRS in the Pyrenean Chamois (*Rupicapra pyrenaica*). The objective of this study was to estimate NF by NIRS by means of 192 faecal samples, collected from May 2009 to September 2010 in two localities (Costabona and Fontalba, both Alpine ecosystems) in the National Hunting Reserve of Freser-Setcases, Catalan Pyrenees (Northwest Spain). NF was first estimated by DUMAS /LECO as reference method and later by NIRSystems 5000 (FOSS). Different mathematical treatments were evaluated for the development of prediction models. Subsequently individual fits were compared to the obtained for the whole sample. Although some statistical parameters were better for the local calibration, the whole fit (i.e., considering both localities at the same time) was accurate enough ($R^2 = 0.97$, $SEC = 0.076$, $r^2 = 0.95$, $SEP = 0.109$) for estimating FN. We can conclude that NIRS is a suitable and accurate tool for predicting FN in Pyrenean Chamois.

Key words: diet quality, faeces, near infrared, ungulates, alpine ecosystem.

INTRODUCCIÓN

Desde mediados de la década de 1930 se ha venido utilizando el nitrógeno fecal (Nf) como uno de los más comunes indicadores de la calidad de la dieta en herbívoros salvajes, especialmente de la concentración de proteína bruta, primero en roedores y luego en otras especies de mamíferos (Schneider, 1935). En la década de

los 40, su uso se extendió a los animales domésticos (Raymond, 1948). Sus principales ventajas radican en que las heces se pueden muestrear en zonas de pastoreo sin tener que extraerlas directamente de los animales, lo cual permite incluir un amplio rango de herbívoros salvajes (Stuth *et al.*, 1999), además el Nf permanece estable en condiciones ambientales durante semanas (Kamler *et al.*, 2003).

Por su parte, la espectroscopía de reflectancia en el infrarrojo cercano (NIRS) se viene usando desde hace años en la determinación de la composición química de heces de herbívoros (Dixon y Coates, 2009), con la ventaja de ser un procedimiento rápido, no destructivo y no contaminante. Este método también se ha utilizado en la determinación de la composición botánica de las dietas de algunos herbívoros domésticos y salvajes (Walker *et al.*, 2002; Glasser *et al.*, 2008; Albanell *et al.*, 2011) e, incluso, en algunos constituyentes de heces humanas (agua, N, grasa y azúcar) en enfermedades relacionadas con alteraciones digestivas (Rivero-Marcotegui *et al.*, 1998). A pesar de que esta técnica se ha utilizado para estimar el Nf en una gran variedad de especies de rumiantes salvajes, p.e. el impala -*Aepyceros melampus*- (Gaidet, 2002), el elefante africano -*Loxodonta africana*- (Greyling, 2004), el ciervo rojo -*Cervus elaphus*- y el corzo -*Capreolus capreolus*- (Kamler *et al.*, 2004), o el ciervo de cola blanca -*Odocoileus virginianus*- (Showers *et al.*, 2006) y domésticos (Alonso *et al.*, 2005), no conocemos aplicaciones de NIRS en ungulados de montaña, como el rebeco (*Rupicapra pyrenaica*).

El objetivo del presente estudio fue desarrollar y evaluar modelos de regresiones NIRS que permitan predecir de forma rápida y eficaz la calidad de la dieta del rebeco.

MATERIAL Y MÉTODOS

En dos zonas alpinas (Costabona y Fontalba) de la reserva nacional de caza de Freser-Setcases (42° 21' N, 2° 09' E., Pirineo catalán) se recolectaron 192 muestras de heces frescas, desde mayo de 2009 hasta septiembre de 2010. El muestreo fue mensual en cada sitio, y se secaron y molieron a 1mm de malla. Se determinó el Nf por el método de combustión DUMAS/LECO, equipo LECO TruSpec N y posteriormente se recogió su información espectral por reflectancia como $\log 1/R$ (R =reflectancia), en un equipo NIRSystems 5000 (FOSS, Hillerød, Dinamarca), que trabaja en el rango de longitudes de onda comprendido entre 1100 y 2500 nm, con un intervalo de 2 mm. Las muestras fueron analizadas por duplicado en cápsulas circulares de 3,5 cm de diámetro, provistas de ventana con cristal de cuarzo. El tratamiento quimiométrico de los datos se realizó usando el programa WinISI III (v. 1.6). Previamente al desarrollo del modelo de calibración, se realizó un pretratamiento matemático de los espectros NIRS, empleando diferentes alternativas: MSC (corrección efecto multiplicativo de dispersión), SNV (variable normal estándar), D (corrección de tendencia) y SNV+D (combinación de los dos anteriores), para corregir los problemas de dispersión múltiple, ópticos y de tendencia respectivamente, y transformados en 1ª, 2ª y 3ª derivada, usando diferentes segmentos de derivación (gap) y de suavizado (smooth).

El método de regresión utilizado para el desarrollo de las calibraciones NIRS fue la regresión por mínimos cuadrados parciales modificados (MPLS). Para la validación de las calibraciones obtenidas, se seleccionaron el 25% de las muestras (las muestras utilizadas para validar no se usaron para calibrar y viceversa). Se utilizaron diferentes estadísticos para la evaluación de la precisión de las ecuaciones obtenidas: coeficiente de determinación de calibración (R^2) y validación (r^2), error estándar de calibración (SEC), de validación cruzada (SECV) y de predicción (SEP). Además, se utilizaron otros estadísticos de gran utilidad para evaluar las ecuaciones de calibración, descritos por Williams y Sobering (1996), como la desviación estándar de los datos de referencia -RPD- (relación entre desviación estándar del grupo de muestras de validación cruzada y el error estándar de predicción), y el rango de error de predicción -RER- (relación entre el rango del método de referencia y el error de predicción).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 1 observamos las características de las muestras de Nf de rebecos, tanto para la zona de Costabona y de Fontalba como para la muestra global (la suma de ambas). Observamos comportamientos de los datos muy parecidos entre las zonas, representando baja variabilidad en el parámetro a predecir.

Tabla 1. Características de las muestras de N fecal de rebecos (*Rupicapra pyrenaica*) utilizadas en el desarrollo de los modelos de predicción NIRS.

Zona geográfica	Calibración				Validación			
	N	Media	Rango	SD	N	Media	Rango	SD
Costabona	59	2,37	1,69 – 3,45	0,40	20	2,44	1,90 – 3,10	0,35
Fontalba	85	2,28	1,53 – 4,10	0,50	28	2,29	1,16 – 3,73	0,62
Global	142	2,34	1,53 – 4,10	0,46	50	2,27	1,62 – 3,49	0,51

N= número de muestras; SD= desviación estándar

Las mejores ecuaciones de calibración obtenidas se seleccionaron sobre la base de maximizar el coeficiente de determinación de la calibración (R^2) y de validación (r^2) y minimizar el SEC y el SEP. En la tabla 2 pueden observarse las mejores calibraciones obtenidas. En el caso de Costabona y Fontalba, se obtuvieron al combinar la 3ª derivada con SNV, y en la calibración general, al combinar la 2ª derivada con el MSC. En las figuras 1 y 2 se representan las mejores regresiones obtenidas para las dos localidades, y en la figura 3 la mejor regresión global, entendidas como la relación entre la predicción NIRS y los datos de nitrógeno fecal de referencia.

Las tres calibraciones propuestas, presentan coeficientes satisfactorios, considerando como buenas calibraciones las que presentan valores de RPD>3 y de RER>10 (Williams y Sobering, 1996). Los estadísticos obtenidos son mejores a los indicados por Alonso *et al.* (2005) en bovinos, ovinos y caprinos en pastoreo extensivo de alta

montaña ($R^2 = 0,96$; RPD = 1,9); Gaidet (2002) en impalas ($R^2 = 0,94$; RPD = 3,2); Greyling (2004) en elefantes africanos ($R^2 = 0,98$; SEP = 0,4); Kamler *et al.* (2004) en ciervos rojos y corzos ($R^2 = 0,97$; SECV = 1,3) y Showers *et al.* (2006) en ciervos de cola blanca ($R^2 = 0,97$; SEP = 1,53).

Tabla 2. Estadísticos de calibración, validación cruzada y validación externa para la predicción del N fecal de rebecos (*Rupicapra pyrenaica*).

ZONA	Trat. Mat. ^a	Correc. Scatter ^b	Calibración		Validación			Estadísticos	
			R ²	SEC	r ²	SECV	SEP	RPD	RER
Costabona	3,4,4,1	SNV	0,994	0,032	0,979	0,058	0,076	6,90	30,34
Fontalba	3,4,4,1	SNV	0,991	0,049	0,974	0,081	0,105	6,17	31,73
Global	2,4,4,1	MSC	0,974	0,076	0,966	0,084	0,109	5,45	30,60

^aTratamiento matemático: derivada, gap, suavizado 1, suavizado 2; ^bCorrección scatter: SNV= variable normal estándar y MSC= corrección efecto multiplicativo de dispersión; R²= coeficiente de determinación de la calibración; SEC= error estándar de calibración; r² = coeficiente de determinación de validación; SECV= error estándar de la validación cruzada; SEP= error estándar de predicción; RPD= desviación estándar de los datos de referencia; RER= rango error de predicción.

Aunque las calibraciones parciales obtenidas mejoran la mayoría de los estadísticos, la calibración global obtenida ($R^2=0,97$; SEC=0,076; $r^2=0,97$; SEP=0,109) es suficientemente robusta, garantizando la predicción adecuada del Nf en las heces de rebecos.

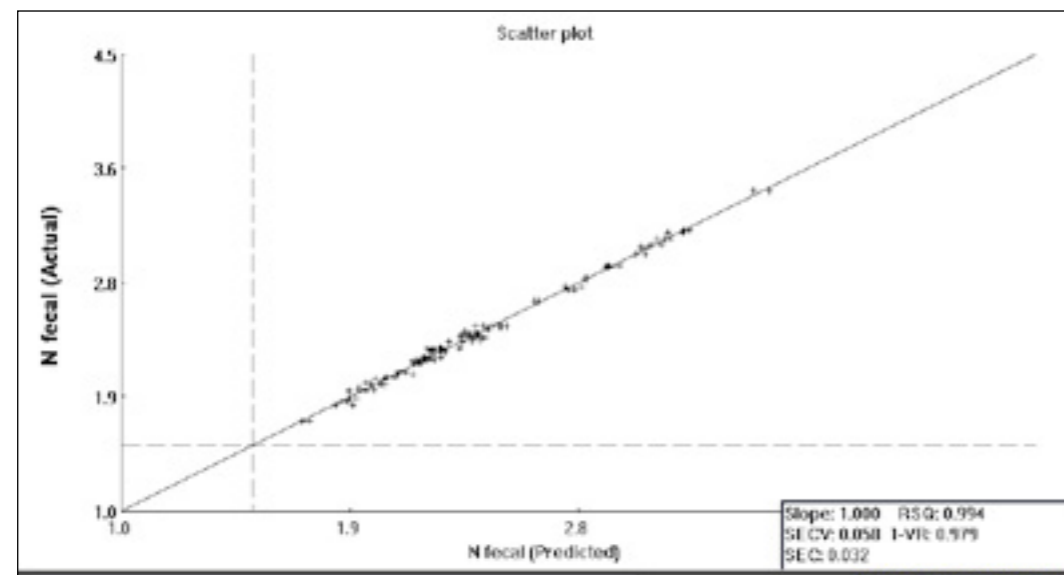


Figura 1. Ajuste de la regresión entre los valores de referencia de Nf y los predichos por NIRS para la calibración desarrollada con las heces procedentes de Costabona.

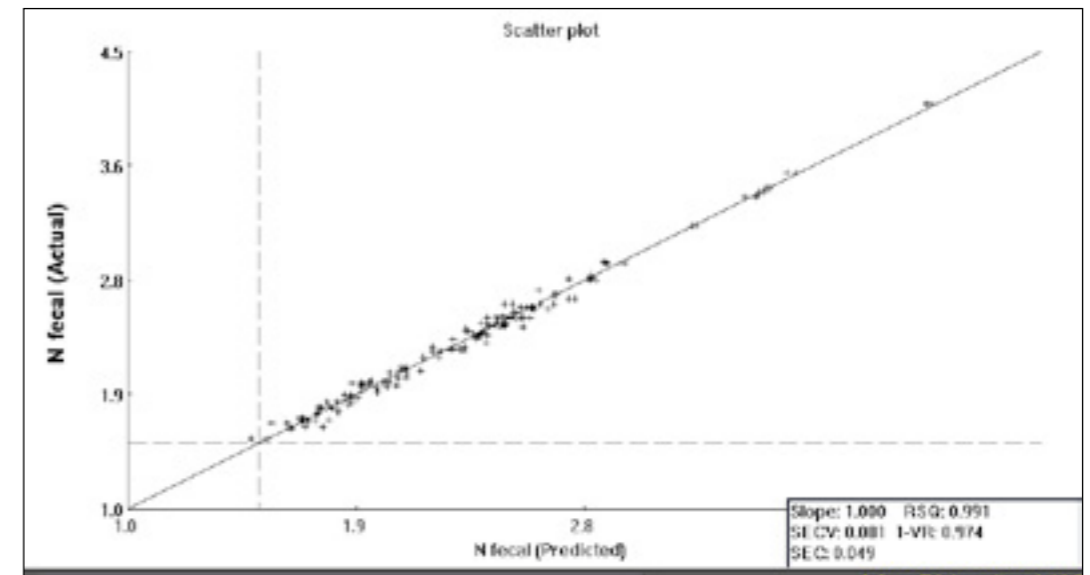


Figura 2. Ajuste de la regresión entre los valores de referencia de Nf y los predichos por NIRS para la calibración desarrollada con las heces procedentes de Fontalba.

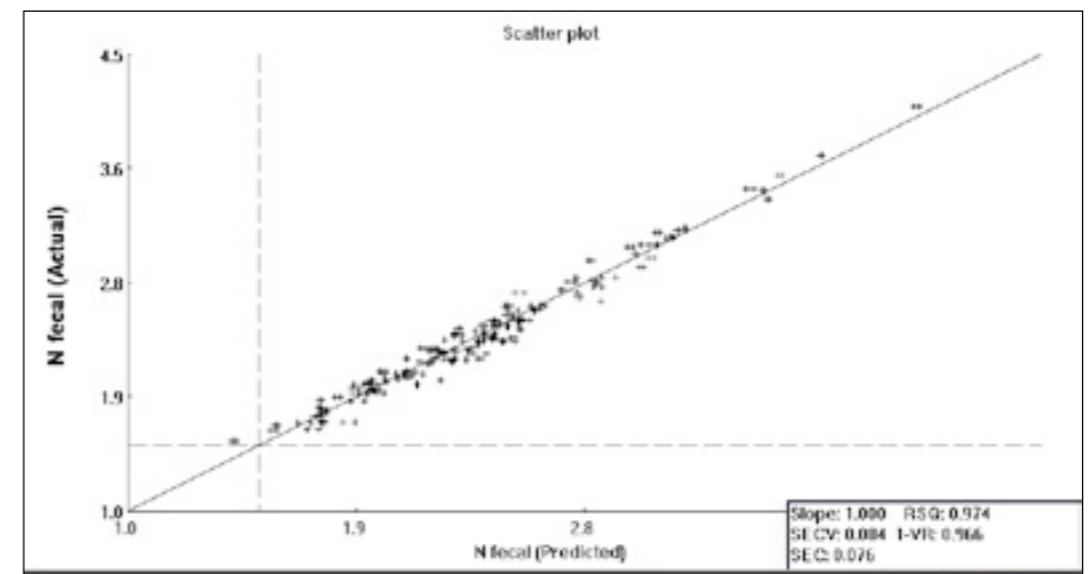


Figura 3. Ajuste de la regresión entre los valores de referencia de Nf y los predichos por NIRS para la calibración global (Costabona + Fontalba).

CONCLUSIÓN

Los modelos de calibración desarrollados mediante espectroscopía de reflectancia en el infrarrojo cercano (NIRS) presentan una exactitud y precisión elevadas, hecho que permite su consideración como aptos para predecir el contenido en N fecal de las heces de rebecos, independiente del lugar de recolección, lo cual facilita la toma de muestras y su posterior procesamiento en el laboratorio.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBANELL E., BARTOLOMÉ J., CRISTOBAL I. Y CASSINELLO J. (2011) Predicción de la composición botánica de la dieta de herbívoros silvestres mediante NIRS. En: López-Carrasco C. *et al.* (Eds.) *Pastos, paisajes culturales entre tradición y nuevos paradigmas del siglo XXI*, pp 439-444. Toledo, España: SEEP.
- ALONSO E., IGARZABAL A., OREGUI L.M. Y MANDALUNIZ N. (2005) Estimación del contenido de nitrógeno en heces de rumiantes mediante espectroscopía en el infrarrojo cercano (NIRS). En: De La Roza, B. *et al.* (Eds). *Producciones agroganaderas: Gestión eficiente y conservación del medio natural*. Vol. II, pp 817-824. Gijón, España: SERIDA.
- DIXON R. Y COATES D. (2009) Review: Near infrared spectroscopy of faeces to evaluate the nutrition and physiology of herbivores. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, **17**, 1-31.
- GAIDET M.N. (2002) *Etude de la dynamique des populations d'ongulés en zone tropicale: contribution du modèle d'une population exploitée d'impalas (Aepyceros melampus)*. Tesis, Université Claude Bernard, Lyon, Francia.
- GLASSER T., LANDAU S., UNGAR E.D., PEREVOLOTSKY A., DVASH L., MUKLADA H., KABABYA D. Y WALKER J.W. (2008) A fecal near-infrared reflectance spectroscopy-aided methodology to determine goat dietary composition in a Mediterranean shrubland. *Journal of Animal Science*, **86**, 1345-1356.
- GREYLING M.D. (2004) *Sex and age related distinctions in the feeding ecology of the African elephant, Loxodonta Africana*. Tesis, University Witwatersrand, Johannesburg, Sudáfrica.
- KAMLER J., HOMOLKA M. Y KRACMAR S. (2003) Nitrogen characteristics in ungulate faeces: Effect of time of exposure and storage. *Folia Zoologica*, **52**, 31-35.
- KAMLER J., HOMOLKA M. Y CIZMAR D. (2004) Suitability of NIRS analysis for estimating diet quality of free-living red deer, *Cervus elaphus*, and roe deer, *Capreolus capreolus*. *Wildlife Biology*, **10**, 235.
- RAYMOND W.F. (1948) Evaluation of herbage for grazing. *Nature*, **161**, 937-945.
- RIVERO-MARCOTEGUI A., OLIVERA-OLMEDO J.E., VALVERDE-VISUS F.S., PALACIOS-SARRASQUETA M., GRIJALBA-UCHE A. Y GARCÍA-MERLO S. (1998) Water, fat, nitrogen and sugar content in faeces: reference intervals in children. *Clinical Chemistry*, **44**, 1540.
- SCHNEIDER B.H. (1935) The subdivision of the metabolic nitrogen on the faeces of rat, swine and man. *Journal of Biological Chemistry*, **109**, 249-278.
- SHOWERS S.E., TOLLESON D.R., STUTH J.W., KROLL J.C. Y KOERTH B. (2006) Predicting diet quality of white-tailed deer via NIRS fecal profiling. *Rangeland Ecology and Management*, **59**, 300-307.
- STUTH J.W., FREER M., DOVE H. Y LYONS R.K. (1999) Nutritional management of free-ranging livestock. En: Hans-Joachim G. Jung & George C. Fahey Jr. (Eds). *Proceedings Vth International Symposium on the Nutrition of Herbivores*, pp 696-751. Savoy, USA, American Society of Animal Sciences.
- WALKER J.W., SCOTT D., McCOY K., LAUNCHBAUGH L., FRAKER M.J. Y POWELL J. (2002) Calibrating fecal NIRS equations for predicting botanical composition of diets. *Journal of Range Management*, **55**, 374-382
- WILLIAMS P.C. Y SOBERING D.C. (1996) How do we do it: a brief summary of the methods we use in developing near infrared calibrations. En: Davis A.M.C. y Williams, P.C. (Eds.) *Near infrared spectroscopy: the future waves*, pp 185-188. Chichester, U.K.: NIR Publications.

Especies toxigénicas del género *Fusarium* presentes en precosecha de maíz forrajero para ensilado en Galicia

Toxicogenic *Fusarium* species in pre-harvest silage maize in Galicia (NW Spain)

M.J. SAINZ¹ / O. AGUÍN² / M.J. BANDE^{1,3} / C. PINTOS² / J.P. MANSILLA²

¹Dpto. Producción Vegetal, Universidad de Santiago de Compostela, Campus Universitario s/n 27002 Lugo. mj.sainz@usc.es

²Estación Fitopatológica do Areiro, Subida a la Robleada s/n, 36153 Pontevedra olga.aguin@depo.es, cristina.pintos@depo.es, pedro.mansilla@depo.es

³Centro de Investigacións Agrarias de Mabegondo, Instituto Galego de Calidade Alimentaria (INGACAL), Apartado 10, 15080 A Coruña. maria.bande@ciam.es

Resumen: En el cultivo de maíz forrajero, todas las partes de la planta pueden verse afectadas por especies de *Fusarium*, que, además de disminuir el rendimiento, pueden producir micotoxinas que persisten en el forraje ensilado y que son perjudiciales para la salud animal. En este trabajo, se identificaron, mediante métodos morfológicos y moleculares, las especies de *Fusarium* presentes en el tallo de híbridos de maíz forrajero cultivados en la provincia de A Coruña. En el momento de corte para ensilado, se detectó una o varias especies de *Fusarium* toxigénicas en todos los híbridos. *F.graminearum*, que produce deoxinivalenol y zearalenona, y un *Fusarium* sp. se encontraron en el 92% y 84% de las muestras, respectivamente.

Palabras clave: *Fusarium graminearum*, híbridos maíz, micotoxinas, tallo maíz, *Zea mays*.

Abstract: In forage maize, all parts of the plant may be affected by *Fusarium* species, which, besides reducing crop yield, can produce mycotoxins that persist in silage and are detrimental to animal health. In this study, we identified, by morphological and molecular methods, the *Fusarium* species present in the stem of forage maize hybrids grown in the province of A Coruña (NW Spain). At time of cutting for silage, one or more toxicogenic *Fusarium* species were detected in all hybrids. *Fusarium graminearum*, which produces deoxynivalenol and zearalenone, and a *Fusarium* sp. were found in 92% and 84% of the samples, respectively.

Key words: *Fusarium graminearum*, maize hybrids, mycotoxins, maize stems, *Zea mays*.

INTRODUCCIÓN

El ensilado de maíz forrajero se ha convertido en un recurso fundamental para la alimentación del ganado vacuno, especialmente el de leche, en Galicia. En 2009, se cultivaron 62 426 ha (37 214 ha en A Coruña y 19 580 ha en Lugo), casi en su totalidad en secano, que produjeron 2 528 334 t en verde (1 618 065 t en A Coruña y 683 342 t en Lugo) (Xunta de Galicia, 2011), lo que representa un 63,7 % de la superficie total cultivada en España y un 57,9% de la producción (MARM, 2010).

Distintas especies del género *Fusarium* son patógenos habituales en el cultivo de maíz, ocasionando menores rendimientos y también pérdidas de calidad del grano debido a que muchos de esos patógenos producen micotoxinas (Wu, 2007). El consumo por el ganado de piensos contaminados por micotoxinas puede tener como consecuencia una menor ingestión del alimento, menores ganancias de peso, mayor incidencia de enfermedades y disminución de la capacidad reproductiva (Binder *et al.*, 2007). Por ello, el conocimiento de las especies de *Fusarium* que pueden afectar al cultivo de maíz