

# La spectrométrie dans le proche infrarouge, outil d'évaluation rapide de la qualité et de la production du fourrage frais

P. Lecomte, P. Dardenne, C. Clément

L'appréciation directe au champ de la valeur alimentaire et de la production fourragère pourrait à l'avenir permettre à l'agriculteur une gestion mieux raisonnée des fourrages en intégrant au mieux leur diversité. Cela devient envisageable avec les méthodes de spectroscopie de réflectance dans le proche infrarouge.

## RÉSUMÉ

Un essai comportant différentes variétés de ray-grass anglais a permis de vérifier l'intérêt que pourrait avoir la mise au point d'étalonnages établis sur produit frais. Comparée aux modèles classiquement développés sur produit sec, la prédiction des paramètres sur produit frais reste dans des limites tout à fait acceptables : elle permet de prédire la teneur en matière sèche à la récolte, le taux de matières azotées totales, le taux de cendres et la digestibilité enzymatique de la matière organique avec des précisions respectives de 1,8, 1,06, 0,44 et 1,78%. La prévision de la production sur la base des spectres de produit frais semble envisageable ; elle est améliorée en associant la hauteur d'herbe à l'herbomètre aux premiers axes de l'A.C.P. réalisée sur les spectres ( $R^2=0,53$  et S.E.=540 kg MS/ha avec les spectres seuls ;  $R^2=0,834$  et S.E.=289 kg/ha avec spectres et hauteur d'herbe).

## MOTS CLÉS

Digestibilité, méthode d'estimation, production fourragère, spectrométrie proche IR, valeur azotée.

## KEY-WORDS

Digestibility, estimation method, forage production, near infra-red spectrophotometry, nitrogen value.

## AUTEURS

Ministère des Classes Moyennes et de l'Agriculture, Station de Haute Belgique, 100, rue du Serpont, B-6800 Libramont.

**E**n testage variétal ou, de manière plus générale, dans l'étude des prairies destinées à la fauche, l'appréciation de critères de qualité alimentaire complète l'étude des productions (en matière sèche par hectare). Ce type de détermination nécessite toutefois, avec les techniques d'analyse classiques, le recours à des protocoles lourds et coûteux. **Précise et rapide, la spectroscopie de réflectance dans le proche infrarouge (SPIR ou NIRS en langue anglaise) est de plus en plus largement utilisée pour prédire les principaux critères qualitatifs d'échantillons séchés à l'étuve (DARDENNE, 1990).** Les développements récents dans le domaine de la SPIR ont conduit à **la mise au point de matériels aptes à évaluer les produits à l'état frais (DARDENNE et al., 1991), éventuellement même au champ, en déplaçant le spectromètre dans un laboratoire mobile.**

Un essai conduit à Libramont (Ardenne, Belgique) sur différentes variétés de ray-grass anglais a permis de vérifier l'intérêt que pourrait avoir la mise au point d'étalonnages permettant **la prédiction sur produit frais des principaux paramètres qualitatifs de la valeur alimentaire. La possibilité de prédire la production de matière sèche de la parcelle a également été étudiée**, à partir des spectres des échantillons frais, seuls ou associés à une mesure de hauteur à l'herbomètre.

## Mise en oeuvre

### ■ Protocole phytotechnique

Pour établir une base de données suffisamment variable quant à la production et aux paramètres de la valeur alimentaire, **6 variétés de ray-grass anglais** ont été choisies (tableau 1) pour leur ploïdie (2n, 4n) et leur précocité (variétés précoces, intermédiaires, ou tardives). Elles ont été cultivées avec **3 niveaux de fertilisation azotée** totale (200, 300 ou 400 unités N/ha/an) répartie en 4 applications. Implantées avec 4 répétitions au printemps 1992, les parcelles (10 m<sup>2</sup>) de l'essai ont subi 4 coupes en 1993 et 1994.

Variétés	Précocité	Ploïdie
Amigo	Précoce	2n
Merlinda	Précoce	4n
Bartet	Intermédiaire	2n
Citadel	Intermédiaire	4n
Parcour	Tardive	2n
Meitra	Tardive	4n

TABLEAU 1 : Variétés de ray-grass anglais utilisées au cours de l'essai.

TABLE 1 : Cultivars of perennial ryegrass used in the trial.

TABLEAU 2 : Paramètres calibrés sur les spectres dans le proche infrarouge des fourrages frais.

TABLE 2 : Parameters of fresh herbage calibrated by near infra-red reflectance spectroscopy.

Paramètres	Unités	
MS	%	Pourcentage de matière sèche étuvée (65°C, 48 heures)
MAT	%MS	Matières azotées totales selon KJELDAHL (norme NF V18-100 adaptée au Kjeltec)
CELL	%MS	Cellulose brute selon WEENDE (norme NF V03-400)
CT	%MS	Cendres totales (norme NF V18-101)
dCASE	%MO	Digestibilité cellulase selon de BOEVER (1988)
RDTMS	kg MS/ha	Production de matière sèche

## ■ Observations

La fauche des parcelles a été effectuée à l'aide d'une récolteuse Haldrup 1500 permettant la pesée parcellaire et la collecte d'un échantillon représentatif de la parcelle. Au cours de l'année 1994, des mesures de hauteur d'herbe ont été effectuées à l'aide d'un herbomètre de type I.T.C.F. sur les première, deuxième et quatrième coupes de l'année.

## ■ Mesures de réflexion dans le proche infrarouge

Les spectres de réflexion dans le proche infrarouge ont été **mesurés au champ sur un échantillon moyen frais**, représentatif des 4 parcelles. Le spectromètre (NIRSystem 6500) était installé dans une camionnette laboratoire. Pour effectuer la mesure, 200 g d'herbe fraîche hachée en brins de 5 à 6 cm sont placés dans une cellule à fenêtre de quartz de 200 x 45 x 40 mm. La technique consiste à établir la moyenne spectrale de 32 mesures effectuées entre 1 100 et 2 500 nanomètres par pas de 2 mm, pendant le déplacement de la cellule face au système optique. Chacun des échantillons a été mesuré avec trois répétitions dont la moyenne constitue le spectre final du produit frais.

**L'échantillon parcellaire a ensuite été séché** à l'étuve à 65°C pour en déterminer la teneur en matière sèche, broyé au moulin à marteau puis dans un Cyclotec à grille de 1 mm, **afin de pouvoir mesurer le spectre de réflexion dans le proche infrarouge du produit sec**. L'acquisition spectrale a été effectuée au laboratoire avec un spectromètre NIRSystem 6500, en plaçant 10 g de matière dans une coupelle à fenêtre de quartz de 35 mm de diamètre et de 10 mm de hauteur.

## ■ Etablissement des calibrages

Les paramètres qualitatifs qui ont été mis en calibrage sur les spectres acquis sur produits frais sont présentés au tableau 2. Les données de références de teneur en matière sèche sont celles qui ont

	n*	min.*	max.*	SEc*	R <sup>2</sup> c*	SEcv*	R <sup>2</sup> cv*
<b>MAT</b>	1 249	3,32	34,20	0,75	0,98	0,78	0,98
<b>CELL</b>	1 261	12,97	42,90	1,31	0,94	1,33	0,94
<b>CT</b>	1 164	7,30	11,80	0,92	0,89	0,95	0,88
<b>dCASE</b>	672	39,37	94,90	1,86	0,97	1,95	0,97

\* n : effectifs ; min. : valeurs minimales ; max. : valeurs maximales ; SEc : écart type résiduel de calibration ; R<sup>2</sup>c : coefficient de détermination en calibration ; SEcv : écart type résiduel en validation croisée ; R<sup>2</sup>cv : coefficient de détermination en validation croisée.

TABLEAU 3 : **Caractéristiques des équations de prédiction utilisées en référence sur produit sec** (DARDENNE et al., 1996).

TABLE 3 : **Characteristics of the prediction equations for dry material used as references** (DARDENNE et al., 1996).

été déterminées à l'étuve ; les productions sont les moyennes des 4 parcelles ; **les données de références qualitatives** (CT, CELL, MAT, dCASE) **sont celles qui ont été prédites sur poudres d'échantillons séchés**, en ayant recours à un ensemble d'équations spécifiques développées et utilisées en routine par la Station de Haute Belgique (DARDENNE et al., 1996) et dont les paramètres caractéristiques figurent au tableau 3.

Les données (n = 144) ont été traitées en **régression de type Partial Least Squares** (PLS ; MARTENS et JENSEN, 1982) à l'aide du logiciel ISI Infracsoft International (SCHENK et WESTERHAUS, 1991). La méthode PLS ayant tendance à surajuster les modèles, on utilise **une procédure de validation croisée** pour déterminer un nombre optimal de termes à retenir. La validation, effectuée à chaque étape pour un nombre croissant de termes (généralement 1 à 14 termes PLS), consiste à choisir aléatoirement 3/4 des échantillons sur lesquels un modèle est développé ; celui-ci est ensuite appliqué au 1/4 des échantillons restants et aboutit à un écart résiduel de prédiction sur des échantillons indépendants. La procédure étant à chaque étape répétée quatre fois, tous les échantillons sont au moins prédits une fois. La moyenne quadratique des quatre écarts obtenus donne une erreur de validation croisée dont le minimum fixe le nombre de termes à retenir dans le modèle. Le modèle final est ensuite recalculé sur l'ensemble des échantillons.

**Les performances des modèles prédictifs sont estimées** de la façon suivante. Les coefficients de détermination en calibration  $R^2_c$  et validation croisée  $R^2_{cv}$  expriment dans les deux cas la part de variation expliquée par la régression. Les écarts types de calibration ( $SE_c$ ) et de validation ( $SE_{cv}$ ) expriment la variabilité de l'erreur commise par le modèle sur les échantillons en calibration et en validation, sur ceux n'ayant pas participé à la calibration.

Parallèlement à l'étude du calibrage des productions sur les spectres de produits frais, **pour 42 échantillons de l'année 1994, les données moyennes de production** des 4 parcelles **ont également été traitées en régression linéaire simple ou multiple** (Minitab, 1991), en associant les premières composantes A.C.P. des spectres infrarouge et les hauteurs moyennes de l'herbe mesurées à l'herbomètre.

TABLEAU 4 : Caractérisation des valeurs observées (RDTMS, MS) ou prédites (MAT, CELL, dCASE, CT) sur produit sec.

TABLE 4 : *Characterization of observed values (RDTMS : DM yield ; MS : DM content) or predicted values (MAT : total CP content ; CELL : fibre ; dCASE : cellulase digestibility ; CT : minerals) on the dry material.*

Paramètres	Fertilisation (kg N/ha/an)	Valeur minimale	Valeur maximale	Moyenne	$\sigma$
RDTMS	200	793	3 189	1 762	810
	300	1 337	4 039	2 451	696
	400	1 256	4 327	2 601	775
MS	200	16,15	30,03	20,63	4,02
	300	14,36	27,04	18,95	3,06
	400	10,77	25,13	16,01	3,57
MAT	200	8,91	18,21	13,19	3,15
	300	9,50	18,49	13,11	2,46
	400	11,09	24,52	16,87	3,52
CELL	200	21,79	28,94	25,55	2,16
	300	22,94	30,52	26,12	1,88
	400	24,11	29,44	26,48	1,37
CT	200	7,36	11,02	9,27	1,01
	300	8,07	11,33	9,49	0,89
	400	8,18	11,75	10,18	1,04
dCASE	200	70,81	87,21	79,38	4,91
	300	65,97	86,32	79,15	4,90
	400	73,09	85,77	79,45	3,02

## Résultats

### ■ Un effet significatif de la fertilisation, pas de la variété

Le tableau 4 présente l'amplitude des valeurs des différents paramètres observés sur l'ensemble des variétés selon les trois niveaux de fertilisation, et pour l'ensemble des coupes (1993 et 1994). Les niveaux de fertilisation ont eu un effet significatif sur la production, les teneurs en M.A.T., M.S. et C.T. L'effet variétal était dans tous les cas non significatif.

### ■ Une prédiction sur produit frais comparable à celle sur produit sec

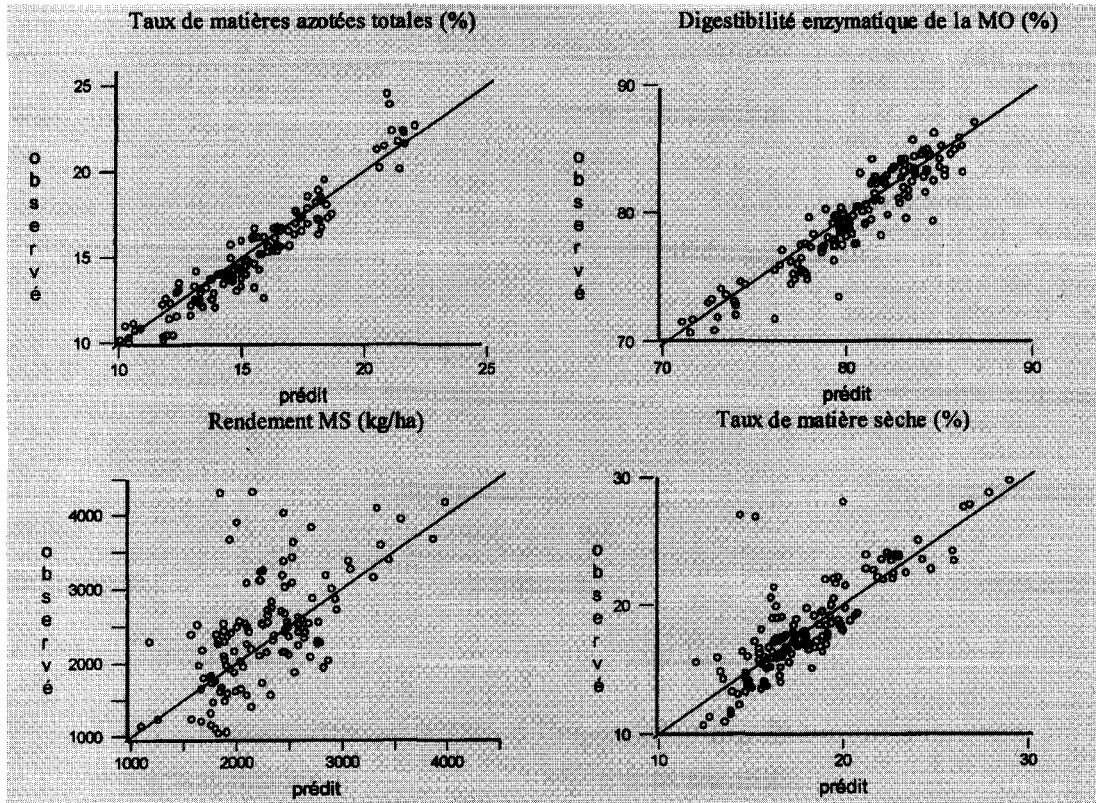
Les caractéristiques des étalonnages établis sur les spectres de produits frais, à partir des valeurs prédites sur les poudres des mêmes échantillons, sont présentées dans le tableau 5. En confrontant les

TABLEAU 5 : Caractéristiques des étalonnages établis sur les spectres de produit frais.

TABLE 5 : *Characteristics of the calibrations set up on the spectra of fresh material.*

	n*	SEc	R <sup>2</sup> c	SEcv	R <sup>2</sup> cv
MS	140	1,48	0,86	1,62	0,83
MAT	140	0,82	0,74	1,06	0,90
CELL	140	0,76	0,84	0,92	0,76
CT	141	0,40	0,86	0,44	0,83
dCASE	136	1,32	0,88	1,78	0,79
RDTMS	139	473	0,64	540	0,53

\* n : effectif repris pour le développement de l'étalonnage final.



valeurs prédites aux valeurs observées, la figure 1 présente les étalonnages pour les paramètres de teneur en matières azotées totales et de digestibilité à la cellulase, ainsi que pour les productions et les teneurs en matière sèche à la récolte.

En ce qui concerne la prédiction des paramètres qualitatifs sur les spectres de produit frais par rapport aux modèles développés sur produit sec, bien qu'un peu moins précises ( $R^2$  moindres et S.E. supérieurs), les équations restent dans des limites tout à fait acceptables. La technique SPIR appliquée au produit frais permet ici de prédire la teneur en matière sèche à la récolte avec une précision de 1,62%. A titre indicatif, la variation entre les blocs était de 1,32%. Pour la production, bien que l'écart type résiduel soit assez large (540 kg MS/ha alors que la variation résiduelle sur l'ensemble de l'essai était de 408 kg), on observe une réponse nette et intéressante dans la prédiction de ce paramètre sur la seule base des spectres de produit frais.

**FIGURE 1 : Valeurs prédites et observées à la récolte pour la teneur en MAT, la digestibilité cellulase, la production et la teneur en matière sèche (144 échantillons).**

**FIGURE 1 : Predicted and observed values at harvest for total CP content, cellulase digestibility, dry matter yield and dry matter content (144 samples).**

## ■ Spectres PIR et hauteur d'herbe permettront de prédire la production

Pour pouvoir associer l'information SPIR aux données de hauteur, une analyse en composantes principales a été réalisée sur les valeurs d'absorbance mesurée sur 700 longueurs d'onde afin de décri-



TABLEAU 6 : Caractéristiques des relations linéaires entre la production, la hauteur d'herbe et les composantes A.C.P. établies sur les spectres proche infrarouge des échantillons frais.

Régression linéaire simple			Régression multiple		
Prédicteur	R <sup>2</sup>	SE	Prédicteur	R <sup>2</sup>	SE
Hauteur (Ht)	53,5	469			
axe 1	44,0	516	Ht, axe 1	73,6	474
axe 2	19,4	619	Ht, axe 2	55,6	465
axe 3	16,8	629	Ht, axe 3	72,4	367
axe 4	0,4	688	Ht, axe 4	64,6	416
axe 5	0,1	698	Ht, axe 5	55,1	468

TABLE 6 : Characteristics of the linear relationships between yield, sward height and components of principal component analysis established on near infra-red spectra of fresh samples.

re la variabilité spectrale selon un nombre limité d'axes principaux non corrélés entre eux et exprimant chacun une part maximale et décroissante de la variance totale.

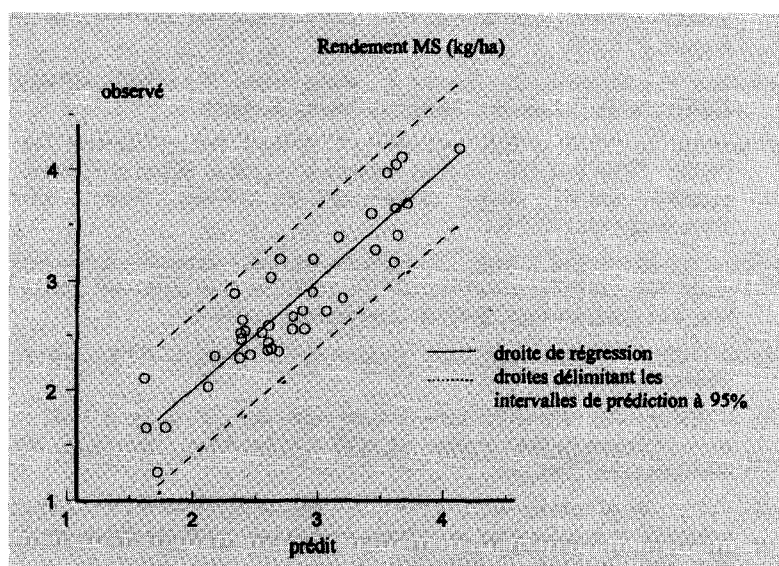
Pour les 42 prélèvements auxquels étaient associées des mesures de hauteur d'herbe, les relations linéaires simples ou multiples qui s'établissent entre la production, les hauteurs et les cinq premières composantes de l'A.C.P. sont décrites par les coefficients du tableau 6. Les hauteurs expliquent 53,0% de la variation de production avec un écart type résiduel de 469 kg. **En associant la hauteur aux différents axes principaux, la prédiction de production se trouve améliorée.** En régression multiple, ce sont la hauteur et les composantes principales 3 et 4 qui paraissent être les prédicteurs les plus intéressants. L'augmentation du nombre de termes au delà de 3 n'améliore pas la précision. Associées à la hauteur ( $H_t$ ), les composantes 3 et 4 ( $A_3$  et  $A_4$ ) conduisent à une droite de type :

$$\text{RDTMS} = +1,69 \cdot 10^4 A_4 - 9,32 \cdot 10^3 A_3 + 93,6 H_t - 1 \cdot 598$$

permettant la prédiction de la production moyenne avec un écart type résiduel de 289 kg/ha et un coefficient de détermination de 83,4%. La figure 2 présente cette relation en confrontant les valeurs prédites aux valeurs observées.

FIGURE 2 : Valeurs de production prédites et observées selon les composantes spectrales et la hauteur à l'herbomètre (droite de régression et intervalles de prédiction à 95%).

FIGURE 2: Predicted and observed values according to spectral components and sward height (regression line and prediction intervals for 0.95 probability).



## Conclusion

Les caractéristiques des calibrages établis sur produits frais montrent **les potentialités nouvelles de la technique SPIR et son adaptabilité à l'appréciation directe au champ**. Les écarts en validation croisée sont un peu moins précis que ceux caractérisant les modèles sur produit sec ; ils sont toutefois établis sur un nombre de données nettement moins grand. La réponse en matière de prédiction de production est intéressante ; elle est fortement améliorée lorsque l'on associe les hauteurs d'herbe aux données spectrales sur produit frais. En introduisant un nombre plus grand de données et en utilisant les termes PLS plutôt que les composantes principales, la précision ou tout au moins la robustesse des modèles pourrait être améliorée. Pour être utilisable en testage de variétés, cette approche préliminaire devrait être confortée et affinée par un plus grand nombre d'essais de référence. Pour la pratique d'exploitation courante des fourrages, on perçoit cependant tout l'intérêt d'une technique permettant de déterminer rapidement au champ le taux de matière sèche, la valeur alimentaire et la biomasse présente dans un terrain à faucher.

Travail présenté aux Journées d'information de l'A.F.P.F.  
 "Les prairies semées destinées aux ruminants :  
 quelle sélection végétale pour demain ?",  
 les 28 et 29 mars 1996.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- DARDENNE P. (1990) : *Contribution à l'utilisation de la spectrométrie dans le proche infrarouge pour l'étude de critères de qualité des céréales et des fourrages*, thèse de doctorat, Gembloux, Faculté des Sciences Agronomiques. 173 p.
- DARDENNE P., SINNAEVE G., BISTON R., LECOMTE P. (1991) : "Fresh grass analysis by NIR spectroscopy", *Proc. 4<sup>th</sup> Int. NIRS conf. Aberdeen*, 19-23 August, 277-283.
- DARDENNE P., SINNAEVE G., BOLLEN L., AGNEESSENS R. (1996) *NIR-NIT Calibration list*, Libramont, Station de Haute Belgique.
- DE BOEVER J.L., COTTYN B.G., ANDRIES J.I., BUYSSE F.X., VANACKER J.M. (1988) : "The use of a cellulase technique to predict digestibility, metabolizable and net energy of forages", *Animal Feed Science and Technology*, 19, 247-260.
- MARTENS H., JENSEN S.A. (1982) : "Partial least squares regression: a new two stage NIR calibration method", *Proc. 7<sup>th</sup> World Cereal Bread Congr.*, Holas et Kratchovil éd., Elsevier, Amsterdam, 607-647.
- Minitab (1991) : *Reference manual, release 8, PC version*, State College, Minitab Inc., USA.
- NF - AFNOR (1985) : *Aliments des animaux: méthodes d'analyses françaises et communautaires*, Paris, AFNOR (Association Française de Normalisation), 399 p.
- SHENK J.S., WESTERHAUS M.O. (1991) : "Population definition, sample selection, and calibration procedures for near infrared reflectance spectroscopy", *Crop Sci.*, 31, 469-474.



## SUMMARY

***Near infra-red reflectance spectroscopy : a tool for a quick assessment of the quality and yield of fresh herbage***

A trial with several cultivars of perennial ryegrass has confirmed the potential interest of calibrating near infra-red spectra for fresh herbage. In comparison with classical models set up for dry material, the accuracy of prediction of the parameters remains quite acceptable. The technique applied to fresh herbage makes it possible to predict the dry matter content at harvest, the total crude protein content, the mineral (ash) content, and the enzymatic digestibility of organic matter with accuracies of 1.8, 1.06, 0.44, and 1.78% respectively.

The method was extended to the potential prediction of plot dry matter yields from spectra of fresh herbage samples, either alone or associated with measurements of sward height made by herbometer. Accuracy of prediction is improved by associating swards height with the first axes of the "principal component analysis" carried out on the spectra of fresh herbage ( $R^2 = 0.53$  ; s.d. = 540 kg/ha with the spectra alone ;  $R^2 = 0.834$  ; s.d. = 289 kg/ha with spectra and sward height).