



**FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS**

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE ROSARIO**

**DETERMINACIÓN GENÉTICA DE CARACTERES DE INTERÉS PARA EL  
DESARROLLO DE IDEOTIPOS DE MAÍZ DESTINADOS A LA PRODUCCIÓN DE  
BIOETANOL**

**LIC. MARÍA LUJÁN FARACE**

**TESIS PARA OPTAR AL TÍTULO DE DOCTOR EN CIENCIAS AGRARIAS**

**DIRECTOR: Ing. Agr. MSc. PhD. Guillermo Hugo Eyhérbide**

**CO- DIRECTORA: Bioq. MSc. Nora Mabel Percibaldi**

**2023**

**DETERMINACIÓN GENÉTICA DE CARACTERES DE INTERÉS PARA EL  
DESARROLLO DE IDEOTIPOS DE MAÍZ DESTINADOS A LA PRODUCCIÓN DE  
BIOETANOL**

María Luján Farace

Licenciada en Genética

Universidad Nacional del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires (UNNOBA)

Esta Tesis es presentada como parte de los requisitos para optar al grado académico de Doctor en Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Rosario y no ha sido previamente presentada para la obtención de otro título en esta u otra Universidad. La misma contiene los resultados obtenidos en investigaciones llevadas a cabo en la Unidad Integrada UNNOBA-INTA, durante el período comprendido entre 1 de julio de 2015 hasta febrero de 2021, bajo la dirección del Ing. Agr. MSc. PhD. Guillermo Hugo Eyhérbide y la co-dirección de la Bioq. MSc. Nora Mabel Percibaldi.



María Luján Farace  
Nombre y firma del Doctorando



Guillermo Hugo Eyhérbide  
Nombre y firma del Director



Nora Mabel Percibaldi  
Nombre y firma del Co - Director

## AGRADECIMIENTOS

A mis directores PhD. Guillermo Eyhérbide y MSc. Mabel Percibaldi por confiar en mi formación para llevar adelante este proyecto, darme la oportunidad de realizar el Doctorado en Ciencias Agrarias, y guiarme en esta etapa.

A mis compañeros de mejoramiento de maíz, del laboratorio, de la UNNOBA y profesionales que me orientaron y ayudaron en muchas de las actividades, en especial a Oscar Ale, Beba Fernández, Ing. Luciana Galizia, Silvina Yanigro, Eliano Salvucci y Dr. Salvador Incógnito.

A la UNNOBA y a la CIC por otorgarme la beca de formación, en especial a la UNNOBA por brindarme la oportunidad de desarrollarme profesionalmente y al director de su Campo Experimental “Las Magnolias”, Ing. Leandro Fariña, que nos cedió espacio y colaboración para conducir los experimentos. A INTA EEA Pergamino por proveerme de un lugar de trabajo, espacio físico, equipamiento y la colaboración de su personal de apoyo en diversas tareas.

A Alexandra Elbakyan por luchar contra la privatización del conocimiento y darnos acceso a millones de artículos científicos a investigadores de todo el mundo con su proyecto Sci-Hub.

A la AMEXCID y CIMMYT por darme la oportunidad de realizar una estadía de investigación en México bajo el marco de las Becas de Excelencia del Gobierno de México para extranjeros.

Al Dr. Juan Burgueño, por recibirme en la Unidad de Biometría y Estadística (BSU) y su predisposición para que la estancia sea enriquecedora tanto en lo profesional como en lo personal. Al equipo de BSU por acompañarme y enseñarme muchísimo, en especial a la Dra. Ángela Pacheco por resolver las dudas de todos los días, su paciencia y amistad.

A mis compañeros de doctorado, que compartimos viajes, cursadas y nervios de exámenes. En especial a Agostina Affinito por su amistad, compañerismo y la ayuda constante en estos años.

A Matías Dominguez, por incentivar me con su amor y apoyo incondicional a crecer y superarme todos los días profesional y personalmente. Además de su valioso aporte como profesional con sus lecturas y consejos en cada capítulo.

A mi familia, por acompañarme en esta etapa.

## PUBLICACIONES Y PRESENTACIONES A CONGRESOS

**Farace, M.L.**, Percibaldi N.M., Eyhéabide G.H., (2018). Efectos genéticos en caracteres asociados a la producción de biocombustibles de primera y segunda generación a partir de maíz. XXVI Jornadas de Jóvenes Investigadores AUGM. Mendoza, Argentina.

**Farace, M.L.**, Percibaldi N.M., Alegre M., Incógnito S., Lopez C., Eyhéabide G.H., (2018). Efectos genéticos de características de calidad de grano de maíz y su influencia en el rendimiento de bioetanol. XI Congreso Nacional de Maíz. Pergamino, Argentina

**Farace M.L.**, Peñas Ballesteros A., Alegre M., Percibaldi N.M., Incognito S., Lopez C., Eyhéabide G.H., (2018) Rendimientos potenciales de residuos de maíz para la producción de biocombustibles celulósicos. I Congreso Multidisciplinario de la UNNOBA. Junín, Argentina

Peñas Ballesteros A., **Farace M.L.**, Alegre M., Percibaldi N.M., Incognito S., Lopez C., Eyhéabide G.H., (2018). Asociación de características de líneas endocriadas y sus híbridos para el rendimiento de etanol. I Congreso Multidisciplinario de la UNNOBA. Junín, Argentina

**Farace M.L.**, Peñas Ballesteros A., Alegre M., Percibaldi N.M., Ramos M.E., Incognito S., Lopez C. Eyhéabide G.H., (2017) Efectos genéticos determinantes de la producción de etanol en maíz. 46° Congreso Argentino de Genética. Ciudad de San Fernando del Valle de Catamarca, Argentina

Peñas Ballesteros A., **Farace M.L.**, Alegre M., Percibaldi N.M., Ramos M.E., Incognito S., Lopez C., Eyhéabide G.H., (2017) Heredabilidad y heterosis para rendimiento de bioetanol en híbridos simples de maíz. 46° Congreso Argentino de Genética. Ciudad de San Fernando del Valle de Catamarca, Argentina

Fernández J.I., Marfetán Molina D., **Farace M.L.**, (2017). Análisis dialelo multiambiental aplicado en R. Congreso Interamericano de Estadística. Rosario, Argentina

# ÍNDICE

|                                                                                                  |              |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------|
| <b>ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS .....</b>                                                             | <b>xvi</b>   |
| <b>RESUMEN .....</b>                                                                             | <b>xviii</b> |
| <b>ABSTRACT .....</b>                                                                            | <b>xx</b>    |
| <b>INTRODUCCIÓN GENERAL .....</b>                                                                | <b>1</b>     |
| 1. Crisis energética global y la necesidad del uso de biocombustibles sostenibles .....          | 2            |
| 2. Cultivo de maíz .....                                                                         | 4            |
| 2.1. Generalidades del cultivo .....                                                             | 4            |
| 2.2. El cultivo en Argentina .....                                                               | 5            |
| 3. Características del grano y la biomasa de maíz .....                                          | 7            |
| 3.1. Estructura y composición del grano de maíz .....                                            | 7            |
| 3.2. Estructura y composición de la biomasa de maíz .....                                        | 13           |
| 4. El maíz como materia prima para biocombustibles .....                                         | 16           |
| 4.1. Antecedentes del cultivo de maíz para la producción de bioetanol .....                      | 16           |
| 4.2. Obtención de bioetanol de primera y segunda generación .....                                | 18           |
| 4.3. Características de calidad del sustrato y su relación con el rendimiento de bioetanol ..... | 22           |
| 5. Importancia del diseño de un ideotipo de maíz para la producción de bioetanol .....           | 23           |
| <b>HIPÓTESIS .....</b>                                                                           | <b>25</b>    |
| <b>OBJETIVO GENERAL .....</b>                                                                    | <b>27</b>    |
| <b>OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....</b>                                                               | <b>29</b>    |
| <b>MATERIALES Y MÉTODOS GENERALES .....</b>                                                      | <b>31</b>    |
| 1. Genotipos evaluados .....                                                                     | 32           |
| 1.1. Líneas endocriadas .....                                                                    | 32           |
| 1.2. Híbridos .....                                                                              | 34           |
| 2. Ambientes de evaluación .....                                                                 | 35           |
| 3. Diseño Experimental .....                                                                     | 38           |
| 4. Caracteres evaluados .....                                                                    | 39           |
| 4.1. Determinaciones químicas de la calidad de grano (DQCG) .....                                | 39           |
| 4.2. Determinaciones físicas de calidad de los granos (DFCG) .....                               | 44           |

|                                                                                                                                                |           |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 4.3. Propiedades térmicas de almidón (PTA) .....                                                                                               | 45        |
| 4.4. Determinaciones químicas de calidad de biomasa (DQCB) .....                                                                               | 46        |
| 4.5. Variables asociadas a características agronómicas y productivas (CAYP) .....                                                              | 47        |
| 5. Análisis estadístico .....                                                                                                                  | 48        |
| <b>CAPITULO I .....</b>                                                                                                                        | <b>49</b> |
| <b>IDENTIFICACIÓN Y ANÁLISIS FENOTÍPICO DE CARACTERES ASOCIABLES A LA PRODUCCIÓN DE ETANOL.....</b>                                            | <b>49</b> |
| Introducción .....                                                                                                                             | 50        |
| Materiales y métodos.....                                                                                                                      | 52        |
| Resultados .....                                                                                                                               | 55        |
| 1. Análisis de varianza.....                                                                                                                   | 55        |
| 2. Análisis de estabilidad biológica y agronómica.....                                                                                         | 61        |
| 3. Análisis factorial en grupos – GFA.....                                                                                                     | 65        |
| Discusión.....                                                                                                                                 | 74        |
| Conclusiones .....                                                                                                                             | 78        |
| <b>CAPITULO II .....</b>                                                                                                                       | <b>79</b> |
| <b>ASOCIACIÓN ENTRE EL RENDIMIENTO DE BIOETANOL DE PRIMERA Y SEGUNDA GENERACIÓN CON CARACTERES DE CALIDAD, AGRONÓMICOS Y PRODUCTIVOS. ....</b> | <b>79</b> |
| Introducción .....                                                                                                                             | 80        |
| Materiales y métodos.....                                                                                                                      | 83        |
| Resultados .....                                                                                                                               | 86        |
| 1. Análisis de las propiedades térmicas del almidón .....                                                                                      | 86        |
| 2. Correlaciones fenotípicas, genotípicas y genéticas entre caracteres.....                                                                    | 89        |
| 2.1. Correlación del rendimiento de etanol a partir de grano. ....                                                                             | 89        |
| 2.2. Correlación del rendimiento de etanol a partir de biomasa (REB). ....                                                                     | 91        |
| 2.3. Relación del rendimiento de bioetanol ( $\text{L.Mg}^{-1}$ ) con el rendimiento de materia seca por hectárea.....                         | 96        |
| 2.3.1. Rendimiento de grano y su relación con el rendimiento de bioetanol de primera generación. ....                                          | 96        |
| 2.3.2. Rendimiento biomasa vegetativa y su relación con el rendimiento de bioetanol de primera generación. ....                                | 97        |

|                                                                                                                                                                                                    |            |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| 2.3.3. Correlación de la producción de bioetanol con el rendimiento de materia seca (Mg.ha <sup>-1</sup> ) y el rendimiento de bioetanol (l.Mg <sup>-1</sup> ) .....                               | 98         |
| 3. Correlaciones entre líneas progenitoras y sus híbridos para los caracteres de calidad.                                                                                                          | 99         |
| Discusión.....                                                                                                                                                                                     | 101        |
| Conclusión .....                                                                                                                                                                                   | 105        |
| <b>CAPITULO III .....</b>                                                                                                                                                                          | <b>107</b> |
| <b>ESTIMACIÓN DE PARÁMETROS GENÉTICOS DE CARACTERES ASOCIADOS A LA PRODUCCIÓN DE ETANOL A PARTIR DE MAIZ EN CINCO AMBIENTES DE LA PROVINCIA DE BUENOS AIRES MEDIANTE UN DISEÑO DIALÉLICO .....</b> | <b>107</b> |
| <b>Introducción .....</b>                                                                                                                                                                          | <b>108</b> |
| <b>Materiales y métodos .....</b>                                                                                                                                                                  | <b>110</b> |
| <b>Resultados.....</b>                                                                                                                                                                             | <b>113</b> |
| 1. Evaluación fenotípica de las líneas parentales .....                                                                                                                                            | 113        |
| 2. Identificación de los cruzamientos con mayor productividad de bioetanol por hectárea.                                                                                                           | 121        |
| 3. Comportamiento relativo del promedio de líneas parentales y sus híbridos F1 mediante análisis de regresión padre progenie y estimación de niveles heterosis.....                                | 123        |
| 3.1. Caracteres asociados a las determinaciones químicas de calidad de grano (DQCG) y determinaciones físicas de calidad de grano (DFCG). ....                                                     | 123        |
| 3.2. Caracteres asociados a las determinaciones químicas de calidad de biomasa.                                                                                                                    | 127        |
| <b>4. Análisis dialélico.....</b>                                                                                                                                                                  | <b>130</b> |
| 4.1. Caracteres asociados a las determinaciones químicas de calidad de grano y determinaciones físicas de calidad de grano.....                                                                    | 130        |
| 4.2. Caracteres asociados a las determinaciones químicas de calidad de biomasa.                                                                                                                    | 140        |
| 4.3. Caracteres asociados a características agronómicas y productivas.....                                                                                                                         | 147        |
| <b>Discusión.....</b>                                                                                                                                                                              | <b>151</b> |
| <b>Conclusión .....</b>                                                                                                                                                                            | <b>155</b> |
| <b>CONSIDERACIONES FINALES .....</b>                                                                                                                                                               | <b>156</b> |
| <b>Bibliografía .....</b>                                                                                                                                                                          | <b>159</b> |
| <b>Apéndice .....</b>                                                                                                                                                                              | <b>176</b> |

## ÍNDICE DE FIGURAS

### INTRODUCCIÓN GENERAL

|                                                                                                                                                                                                                                                                     |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1. Producción de maíz por zonas en Argentina (Mg), datos correspondientes a la campaña 2018-19. ....                                                                                                                                                         | 6  |
| Figura 2. Estructura química de las moléculas que conforman al almidón. ....                                                                                                                                                                                        | 8  |
| Figura 3. Micrografías electrónicas de secciones transversales de los dos tipos de endospermos que conforman al grano de maíz. ....                                                                                                                                 | 10 |
| Figura 4. Clasificación comercial de granos de maíz de acuerdo a la distribución de los tipos de endospermo en el grano. ....                                                                                                                                       | 12 |
| Figura 5. Estructura de la pared vegetal y sus compuestos químicos principales: Celulosa, hemicelulosa y lignina. ....                                                                                                                                              | 15 |
| Figura 6. Ubicación geográfica de las cinco plantas productoras de bioetanol en Argentina a partir de maíz y producción nacional de bioetanol de primera generación en miles de m <sup>3</sup> a partir de maíz y de caña de azúcar desde el año 2009 al 2018. .... | 18 |
| Figura 7. Proceso de obtención de bioetanol de primera generación y segunda generación a partir de la fracción amilácea del grano de maíz y de la fracción lignocelulósica (tallos, hojas, chalas) de la planta de maíz respectivamente. ....                       | 21 |
| Figura 8. Variabilidad fenotípica de las líneas endocriadas empleadas como parentales. ....                                                                                                                                                                         | 32 |
| Figura 9. Condiciones climáticas (precipitaciones y temperatura mínima, máxima y media) a través de diagramas climáticos que afrontó cada experimento en su respectivo ambiente durante el ciclo productivo y el periodo de floración en la campaña 2015-16. ....   | 37 |
| Figura 10. Condiciones climáticas (precipitaciones y temperatura mínima, máxima y media) a través de diagramas climáticos que afrontó cada experimento en su respectivo ambiente durante el ciclo productivo y el periodo de floración en la campaña 2016-17. ....  | 38 |



## CAPITULO I

Figura 1.3. Asociación de los factores latentes a cada grupo de variables expresado a través de sus cargas resultante del análisis de grupo de factores aplicado a 25 híbridos evaluados en cinco ambientes del norte de Buenos Aires en las campañas 2015-16 y 2016-17.....66

Figura 1.4. Agrupamiento de 25 híbridos evaluados en cinco ambientes del norte de la provincia de Buenos Aires distribuidos en dos campañas agrícolas de acuerdo al análisis de cluster jerárquico a partir de las cargas de cada carácter en cada uno de los  $k=3$  factores obtenidos en la caracterización fenotípica mediante el análisis factorial en grupo aplicado a los predictores BLUPs.....70

Figura 1.5. Caracterización fenotípica de 25 genotipos evaluados en cinco ambientes del norte de la provincia de Buenos Aires distribuidos en dos campañas agrícolas mediante *bipLOTS* de las cargas de los genotipos para cada factor (factor 1 vs. factor 2, factor 1 vs. factor 3) obtenidas en el análisis factorial en grupo realizado a partir de los correspondientes predictores BLUPs. ....73

## CAPITULO II

Figura 2.1. Comportamiento fenotípico para las concentraciones de almidón y amilosa y propiedades térmicas de almidón en relación al rendimiento de etanol del grano de diez híbridos evaluados en cuatro ambientes del norte de la provincia de Buenos Aires, distribuidos en dos campañas agrícolas. ....88

Figura 2.2. Correlación fenotípica (triángulo inferior) y genotípica (triángulo superior) entre los caracteres a partir de los valores fenotípicos de los híbridos F1 evaluados en cuatro ambientes del norte de Buenos Aires. La escala de color a la derecha del gráfico indica la magnitud del coeficiente de correlación entre caracteres que resultaron significativos ( $p \leq 0,05$ ). Las correlaciones no significativas ( $p > 0.05$ ) se denotan en blanco. ....93

Figura 2.3. Matriz de correlaciones genéticas estimadas mediante el método de covarianzas cruzadas a partir de los valores fenotípicos de las 5 líneas parentales y sus híbridos F1 evaluados en cuatro ambientes del norte de la provincia de Buenos Aires distribuidos en dos campañas agrícolas. La escala de color a la derecha del gráfico indica la magnitud del coeficiente de correlación entre caracteres que resultaron

significativos ( $p \leq 0,05$ ). Las correlaciones no significativas ( $p > 0,05$ ) se denotan en blanco. ....94

### CAPITULO III

Figura 3.1. Medias ajustadas de cinco líneas endocriadas para las determinaciones químicas y físicas de calidad de granos en los siguientes ambientes de evaluación: 1) Colón 2015-16; 2) Junín 2015-16; 3) Pergamino 2015-16; 4) Junín 2016-17; 5) Pergamino 2016-17. ....115

Figura 3.1. Continuación. ....116

Figura 3.1 (Continuación) ....117

Figura 3.1 (Continuación) ....118

Figura 3.2. Medias ajustadas de cinco líneas endocriadas para las determinaciones químicas de calidad de biomasa en los siguientes ambientes de evaluación: 1) Colón 2015-16; 2) Junín 2015-16; 3) Pergamino 2015-16; 4) Junín 2016-17; 5) Pergamino 2016-17. ....119

Figura 3.2. Medias ajustadas de cinco líneas endocriadas para las determinaciones químicas de calidad de biomasa en los siguientes ambientes de evaluación: 1) Colón 2015-16; 2) Junín 2015-16; 3) Pergamino 2015-16; 4) Junín 2016-17; 5) Pergamino 2016-17. ....120

Figura 3.3. Evaluación de la productividad por hectárea estimada a partir del análisis de varianza a través de ambientes. ....122

Figura 3.4. Estimación del comportamiento medio de los híbridos a través del comportamiento promedio de sus líneas progenitoras para la concentración de almidón ( $\text{g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ ) a la izquierda y el rendimiento de etanol a partir de grano ( $\text{l} \cdot \text{Mg}^{-1}$ ) a la derecha. ....123

Figura 3.5. Estimación del comportamiento medio de los híbridos a través del comportamiento promedio de sus líneas progenitoras para la concentración de hemicelulosa ( $\text{g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ ) a la izquierda y el rendimiento de etanol a partir de biomasa ( $\text{l} \cdot \text{Mg}^{-1}$ ) a la derecha. ....127

Figura 3.6. Diagrama de la contribución de los efectos genéticos de aptitud combinatoria general de los parentales hembra (en azul) y macho (en anaranjado) y específica del cruzamiento (rojo) en cada híbrido mediante un diseño genético de Griffing tipo II de

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |     |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| efectos fijos a través de ambientes, para características químicas de endospermo y rendimiento de etanol a partir de grano. Las medias generales de cada variable se pueden consultar en la Tabla 3.5 .....                                                                                                                                                                                                          | 134 |
| Figura 3.6 Continuación.....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 135 |
| Figura 3.7. Diagrama de la contribución de los efectos genéticos de aptitud combinatoria general de los parentales hembra (en azul) y macho (en anaranjado) y específica del cruzamiento (en rojo) en cada híbrido mediante un diseño genético de Griffing tipo II de efectos fijos a través de ambientes, para propiedades físicas. Las medias generales de cada variable se pueden consultar en la Tabla 3.5 ..... | 136 |
| Figura 3.8 Análisis de componentes principales (ACP) de las variables asociadas a calidad de grano para los efectos de aptitud combinatoria general (ACG) y específica (ACE) .....                                                                                                                                                                                                                                   | 138 |
| Figura 3.8 Continuación.....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 139 |
| Figura 3.9. Contribución de los efectos genéticos de aptitud combinatoria general de los parentales hembra (ACG_P1) y macho (ACG_P2) y específica del cruzamiento (ACE) en cada híbrido obtenidos mediante un diseño genético de Griffing tipo II de efecto fijos a través de ambientes para características de calidad de biomasa. Las medias generales de cada variable se pueden consultar en la Tabla 3.7 .....  | 143 |
| Figura 3.9. Continuación.....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | 144 |
| Figura 3.8 Análisis de componentes principales (ACP) de las variables asociadas a calidad de biomasa para los efectos de aptitud combinatoria general (ACG) y específica (ACE) .....                                                                                                                                                                                                                                 | 145 |
| Figura 3.8 Continuación.....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 145 |

## ÍNDICE DE TABLAS

### INTRODUCCIÓN GENERAL

|                                                                                                                                                                                     |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabla 1. Composición química del grano de maíz tipo dentado y sus distintas fracciones en porcentaje (base seca – b.s.) .....                                                       | 7  |
| Tabla 2 Información de las líneas endocriadas utilizadas como parentales en el diseño dialélico y evaluadas en los experimentos con sus respectivos códigos de identificación ..... | 33 |
| Tabla 3. Código de identificación (ID) de los híbridos experimentales y comerciales evaluados en los 5 ambientes de la zona núcleo de la provincia de Buenos Aires. ....            | 35 |
| Tabla 4. Descripción de los ambientes de evaluación en términos de temperatura promedio y precipitaciones desde siembra hasta cosecha de los experimentos. ....                     | 36 |
| Tabla 5. Calibraciones NIRS para el rendimiento de etanol a partir de grano, concentración de proteína y almidón .....                                                              | 43 |
| Tabla 6. Clasificación del grano de maíz por su dureza para índice de flotación (FT), peso hectolítrico (PH), relación de molienda (RM) y densidad del grano (DG). ....             | 45 |
| Tabla 7. Calibraciones NIRS para las determinaciones químicas de calidad de biomasa. ....                                                                                           | 47 |

### CAPITULO I

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabla 1.2. Componentes de varianzas estimados por REMLs y los BLUPs obtenidos para variables asociadas a características de calidad química y física de los granos para 25 híbridos de maíz (ID según Tabla 1.1) evaluados en cinco ambientes del norte de la provincia de Buenos Aires distribuidos en dos campañas agrícolas. ....          | 56 |
| Tabla 1.3 Clasificación de los genotipos (ID en Tabla 1.1) según la dureza del endospermo del grano según para índice de flotación (IF), peso hectolítrico (PH), peso hectolítrico en conjunto con relación de molienda (RM) y densidad del grano (DG) realizada según los diferentes autores. ....                                           | 57 |
| Tabla 1.4. Componentes de varianzas estimados por REMLs y los predictores BLUPs obtenidos para variables asociadas a características de calidad química de biomasa correspondientes a 25 híbridos de maíz (ID en Tabla 1.1) evaluados en cinco ambientes del norte de la provincia de Buenos Aires distribuidos en dos campañas agrícolas. .. | 58 |

Tabla 1.5. Componentes de varianzas estimados por REMLs y los predictores BLUPs obtenidos para variables asociadas a características agronómicas y productivas para 25 híbridos de maíz (codificaciones en Tabla 1.1) evaluados en cinco ambientes del norte de la provincia de Buenos Aires distribuidos en dos campañas agrícolas.....60

## CAPITULO II

Tabla 2.1. Estimaciones REMLs de componentes de varianzas de las propiedades térmicas de almidón de diez híbridos evaluados en cuatro ambientes del norte de la provincia de Buenos Aires en experimentos con dos repeticiones.....86

Tabla 2.2. Estimaciones de los coeficientes de correlación fenotípica ( $\rho F$ ), correlación genotípica ( $\rho G$ ) y contribución del componente genotípico ( $\%G$ ) a la correlación fenotípica a partir de híbridos F1, y correlación genética ( $\rho A$ ) estimada a partir del método de covarianzas cruzadas para el rendimiento de etanol a partir de grano (REGN) y de biomasa (REB) con el resto de los caracteres evaluados.  $\rho A$ .....95

Tabla 2.3. Componentes de varianzas estimados por REMLs y los predictores BLUPs obtenidos para rendimiento de grano (RG), rendimiento de bioetanol a partir de grano (REGN), producción de bioetanol a partir de grano (PEG), rendimiento de biomasa vegetativa (RB), rendimiento de bioetanol a partir de biomasa (REB) y producción de bioetanol a partir de biomasa (PEB) en diez híbridos de maíz evaluados con dos repeticiones en cinco ambientes\* del norte de la provincia de Buenos Aires, distribuidos en dos campañas agrícolas. ....99

Tabla 2.4. Estimaciones de la correlación fenotípica línea – híbrido ( $\rho F$ ) a partir del valor fenotípico promedio de los parentales y su híbrido respectivo en cuatro ambientes de evaluación en el norte de la provincia de Buenos Aires, distribuidos en dos campañas agrícolas.....100

## CAPITULO III

Tabla 3.2. Cuadrados medios (CM) del análisis de varianza a través de ambientes (Amb) y su significancia de cinco líneas endocriadas evaluadas en Colón (2015-16), Junín (2015-16 y 2016-17) y Pergamino (2015-16 y 2016-17) para determinaciones químicas y físicas de calidad de grano y determinaciones químicas de calidad de biomasa. ....114

Tabla 3.3 Porcentaje (%) de heterosis a partir del promedio de los padres  $H$  (1° fila) y a partir del progenitor superior  $Hb$  (2° fila) y el BLUP (3° fila) a través de ambientes de

cada uno de diez híbridos para características asociadas a las determinaciones químicas de calidad de grano y determinaciones físicas de calidad de los granos...126

Tabla 3.4. Porcentaje (%) de heterosis a partir del promedio de los padres (1° fila) y a partir del progenitor superior (2° fila) y el BLUP (3° fila) a través de ambientes de cada uno de diez híbridos evaluados en para características asociadas a las determinaciones químicas de calidad de biomasa. ....129

Tabla 3.5. Cuadrados medios del análisis de varianza a través de localidades para características químicas de calidad y propiedades físicas de los granos según el diseño dialélico de Griffing (1956), método II de efectos fijos para los caracteres concentración de amilosa (CAM), almidón (CAL), proteína (PRT) y aceite (CA), ácidos palmítico (AP), esteárico (AE), oleico (AO), linoleico (ALI) y linolénico, peso hectolítrico (PH), relación de molienda (RM), índice de flotación (IF), densidad de grano (DG) y rendimiento de etanol a partir de grano (REGN).....132

Tabla 3.6 Efectos de ACG (aptitud combinatoria general) y ACE (Aptitud combinatoria específica) de líneas e híbridos obtenidos mediante un diseño genético dialélico de Griffing (1956), método II de efectos fijos para los caracteres concentración de amilosa (CAM), almidón (CAL), proteína (PRT) y aceite (CA), ácidos palmítico (AP), esteárico (AE), oleico (AO), linoleico (ALI) y linolénico, peso hectolítrico (PH), relación de molienda (RM), índice de flotación (IF), densidad de grano (DG) y rendimiento de etanol a partir de grano (REGN). ....133

Tabla 3.7. Cuadrados medios del análisis de varianza a través de ambientes para determinaciones químicas de calidad de biomasa según el diseño dialélico de Griffing (1956), método II de efectos fijos para fibra de detergente neutro (FDN), fibra de detergente ácido (FDA), lignina de detergente ácido (LDA), celulosa (CE), hemicelulosa (HE), digestibilidad in vitro de la fibra (DIVF), digestibilidad de FDN (DFDN), rendimiento de etanol a partir de biomasa (REB).....140

Tabla 3.8. Efectos de ACG (aptitud combinatoria general) y ACE (Aptitud combinatoria específica) de líneas e híbridos para características de calidad de biomasa obtenidos mediante un diseño genético dialélico de Griffing (1956), método II de efectos fijos para fibra de detergente neutro (FDN), fibra de detergente ácido (FDA), lignina de detergente ácido (LDA), celulosa (CE), hemicelulosa (HE), digestibilidad in vitro de la fibra (DIVF), digestibilidad de FDN (DFDN), rendimiento de etanol a partir de biomasa (REB). ...142

Tabla 3.9. Cuadrados medios del análisis de varianza a través de localidades para características agronómicas según el diseño dialélico de Griffing (1956), método IV de efectos fijos para días al 50% de floración femenina (DFF), altura relativa (AR), peso de 1000 granos (PM), diámetro de la espiga (DES), longitud de la espiga (LES), número de hileras (NH), pesos seco de tallos y hojas (PSTH), de chalas (PSC), y de marlos (PSM), rendimiento de grano (RG), rendimiento de biomasa (RB) e Índice de cosecha (IC).....149

Tabla 3.10 Efectos de **ACG** (aptitud combinatoria general) y **ACE** (Aptitud combinatoria específica) de líneas e híbridos para características agronómicas y productivas obtenidos mediante un diseño genético dialélico de Griffing (1956), método IV de efectos fijos para días al 50% de floración femenina (DFF), altura relativa (AR), peso de 1000 granos (PM), diámetro de la espiga (DES), longitud de la espiga (LES), número de hileras (NH), pesos seco de tallos y hojas (PSTH), de chalas (PSC), y de marlos (PSM), rendimiento de grano (RG), rendimiento de biomasa (RB) e Índice de cosecha (IC).....150

## ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

**ACE:** aptitud combinatoria específica  
**ACG:** aptitud combinatoria general  
**ACP:** análisis de componentes principales  
**AE:** ácido esteárico  
**ALI:** ácido linoléico  
**ALN:** ácido linolénico  
**AO:** ácido oleico  
**AP:** ácido palmítico  
**AR:** altura relativa  
**b.s.:** base seca  
**BLUP:** mejores predictores lineales insesgados, del inglés *Best Linear Unbiased Predictions*  
**°C:** *grado centígrado*  
**CA:** concentración de aceite  
**CAYP:** características agronómicas y productivas  
**CAL:** concentración de almidón  
**CAM:** concentración de amilosa  
**CE:** celulosa  
**cm:** centímetro  
**cM:** centimorgan  
**CP:** componente principal  
**D.E.:** desvío Estandar  
**DBCA:** diseño en bloques completos aleatorizados  
**DDG:** destilados de granos secos  
**DES:** diámetro de la espiga  
**DFCG:** determinaciones físicas de calidad de los granos  
**DFDN:** disgestibilidad de FDN  
**DFF:** días a floración femenina  
**DG:** densidad del grano  
 **$\Delta H_G$ :** entalpía de gelatinización  
 **$\Delta H_R$ :** entalpía de retrogradación  
**DIVF:** digestibilidad *in vitro* de la fibra  
**DQCB:** determinaciones químicas de calidad de biomasa  
**DSC:** calorimetría diferencial de barrido, del inglés *Differential Scanning Calorimetry*

**EEAP:** Estación Experimental Agropecuaria Pergamino  
**FADA:** Fundación Agropecuaria Para el Desarrollo de Argentina  
**FDA:** fibra detergente ácido  
**FDN:** fibra detergente neutro  
**g:** gramo  
**GAX:** glucuronoarabinoxilanos  
**GEI:** gases de efecto invernadero  
**GFA:** análisis factorial en grupo, del inglés *Group Factor Analysis*  
**H:** heterosis  
**ha:** hectárea  
**H<sub>b</sub>:** heterobeltiosis  
**HE:** hemicelulosa  
**hl:** hectolitro  
**IC:** índice de cosecha  
**IF:** índice de flotación  
**INTA:** Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria  
**kg:** kilogramo  
**l:** litro  
**LCASyA:** Laboratorio de Calidad de Alimentos, Suelos y Agua  
**LDA:** lignina detergente ácido  
**LES:** longitud de la espiga  
**LSD:** diferencia mínima significativa, del inglés *Least Significant Difference*  
**m:** metro  
**M:** molar  
**MAGyP:** Ministerio de agricultura y pesca  
**Mg:** megagramo  
**min:** minuto  
**ml:** mililitro  
**mm:** milímetro  
**NH:** número de hileras por espiga  
**NIRS:** espectometría de infrarrojo cercano, del inglés *Near Infrared Spectroscopy*  
**PEG:** producción de etanol a partir de grano



**PEB:** producción de bioetanol a partir de biomasa  
**PH:** peso hectolítrico  
**PHI<sub>G</sub>:** índice de altura de pico de gelatinización  
**PM:** peso de mil semillas  
**PP:** precipitaciones  
**ppm:** partes por millón  
**PRT:** concentración de proteína  
**P<sub>R</sub>:** porcentaje de recristalización o retrogradación  
**PSC:** peso seco de chala  
**PSG:** peso seco de grano  
**PSM:** peso seco de marlo  
**PSTH:** peso seco de tallo y hoja  
**PTA:** propiedades térmicas de almidón  
**QTLs:** loci de caracteres cuantitativos, del inglés *Quantitative Trait Loci*  
**RB:** rendimiento de biomasa  
**REB:** rendimiento teórico de etanol a partir de biomasa  
**REGN:** rendimiento de etanol a partir de grano por NIRS  
**REML:** máxima verosimilitud restringida, del inglés *Restricted Maximum Likelihood*  
**RFA:** Asociación de combustibles renovables, del inglés *Renewable Fuels Association*  
**R<sub>G</sub>:** rango de gelatinización

**RG:** rendimiento de grano  
**RILs:** líneas endocriadas recombinantes, del inglés *Recombinant Inbred Lines*  
**RM:** relación de molienda  
**R<sub>R</sub>:** rango de retrogradación  
**SSRs** Secuencias simples repetidas, del inglés *simple sequence repeats*.  
**T<sub>0G</sub>:** temperatura de inicio de gelatinización  
**T<sub>0R</sub>:** temperatura de inicio de retrogradación  
**T<sub>PG</sub>:** temperatura de pico de gelatinización  
**T<sub>PR</sub>:** temperatura de pico de retrogradación  
**T<sub>m</sub>:** temperatura media  
**T<sub>PR</sub>:** temperatura de pico de retrogradación  
**UNLZ:** Universidad Nacional de Lomas de Zamora  
**UNNOBA:** Universidad Nacional del Noroeste de la provincia de Buenos Aires  
**%:** Porcentaje  
**% v/v:** % volumen-volumen  
**1G:** etanol de primera generación  
**2G:** etanol de segunda generación

## RESUMEN

Existe un interés creciente en el reemplazo de energías no renovables por combustibles alternativos que provengan de recursos renovables, entre ellos el bioetanol a partir de productos provenientes del cultivo de maíz. En Argentina el maíz es el cereal de mayor importancia y la producción de etanol permite agregar valor a su cadena productiva. En maíz el bioetanol de primera generación (1G) se obtiene a partir del grano que proviene de cultivares híbridos que han sido seleccionados por su alto rendimiento y tolerancia a factores de estrés. En cambio, el bioetanol de segunda generación (2G) de maíz se obtiene a partir de la biomasa lignocelulósica y su elección es en función de la disponibilidad y el bajo costo, aunque en Argentina esta tecnología aún no está desarrollada.

El objetivo general de este trabajo fue definir un ideotipo de maíz para la producción de bioetanol que permita sentar las bases para el desarrollo de un programa de mejoramiento genético orientado a una mayor y más eficiente producción de bioetanol. Los objetivos específicos consistieron en identificar la influencia de parámetros de calidad de grano y de biomasa y de características agronómicas y productivas sobre el rendimiento de bioetanol de primera y segunda generación en ambientes de la zona maicera núcleo de Argentina, e identificar los efectos genéticos preponderantes en cada caso. Para ello se condujeron experimentos cuyo diseño fueron en bloques completamente aleatorizados (DBCA) con dos repeticiones, en cinco ambientes del norte de la provincia de Buenos Aires. El material genético evaluado consistió en cinco líneas endocriadas de maíz desarrolladas por INTA Pergamino: L<sub>1</sub> (LP2542), L<sub>2</sub> (LP661), L<sub>3</sub> (LP29), L<sub>4</sub> (LP923) y L<sub>5</sub> (LP214), sus diez cruzamientos entre sí y 15 híbridos comerciales. Los caracteres estudiados se agruparon en determinaciones químicas de calidad de grano (DQCG), determinaciones físicas de calidad de grano (DFCG), determinaciones químicas de calidad de biomasa (DQCB) y características agronómicas y productivas (CAYP).

La caracterización de los genotipos y la asociación entre grupos de caracteres se realizaron mediante análisis factorial en grupo (GFA) empleando los BLUPs obtenidos en el análisis de varianza a través de ambientes. Se obtuvieron  $K = 3$  factores que agruparon las variables consideradas. El test de convergencia de las cadenas de Markov mediante un diagnóstico de Geweke, resultó de 0,0341. El factor 1 fue exclusivo de DQCG y DFCG, los factores 2 y 3 agruparon a los caracteres asociados a DQCB y a CAYP.

Se identificaron dos ideotipos de maíz, destinados a la producción de biocombustible de 1G y de 2G respectivamente. Un cultivar destinado a la industria de bioetanol de 1G con rendimiento de etanol mayor a  $470 \text{ l.Mg}^{-1}$ , debería presentar una composición química del grano que comprenda un mínimo de concentración de almidón de  $71,5 \text{ g.100 g}^{-1}$ , concentración de proteína menor a  $9,0 \text{ g.100.g}^{-1}$ , concentración de aceite menor a  $4,7 \text{ g.100.g}^{-1}$ , un perfil de ácidos grasos con mayores porcentajes de ácido linoleico y menores porcentajes de ácidos palmítico y oleico. La textura del endospermo debe ser de tipo suave o harinosa presentando un peso hectolítrico menor a  $76,0 \text{ kg.hl}^{-1}$ , una relación de molienda menor a 3,8, un índice de flotación mayor a 70% y una densidad de grano menor a  $1.2 \text{ g.ml}^{-1}$ .

Un cultivar destinado a la industria de bioetanol de 2G con rendimiento de etanol mayor a  $519,7 \text{ l.Mg}^{-1}$ , debería presentar una composición química de la biomasa con una concentración de FDN mayor a  $80 \text{ g.100.g}^{-1}$  y FDA mayor a  $42,7 \text{ g.100.g}^{-1}$ . Asimismo, se identificó que el rendimiento de etanol a partir de biomasa esta mediado por la concentración de carbohidratos estructurales y/o la digestibilidad por lo que es deseable un cultivar con alta concentración de carbohidratos de alta digestibilidad y el menor concentración de lignina posible.

Los efectos genéticos se estimaron mediante un diseño de Griffing método II y IV de efectos fijos. Se identificaron con aptitud combinatoria general (*ACG*) alta y positiva a las líneas  $L_1$  y  $L_3$  para el rendimiento de bioetanol de primera generación; a las líneas  $L_1$  y  $L_5$  para el rendimiento de etanol de segunda generación; a las líneas  $L_4$  y  $L_1$  para el rendimiento de grano y a las líneas  $L_4$  y  $L_2$  para el rendimiento de biomasa. Para el rendimiento de bioetanol de primera generación prevalecieron los efectos de tipo mayormente aditivos *ACG* y para la producción de etanol de segunda generación estuvieron presentes los efectos aditivos (*ACG*) y no aditivos evaluados a través de la aptitud combinatoria específica (*ACE*) con presencia de interacción genotipo por ambiente.

Estos resultados son el punto de partida para lograr consolidar un programa de mejoramiento genético de maíz específico para la producción de bioetanol a partir del germoplasma de INTA, con el objetivo de alcanzar híbridos cuya producción resulte en materias primas especialmente aptas para la industria de biocombustibles que garanticen altos rendimientos con menores costos de producción.

## **ABSTRACT**

### **GENETIC DETERMINATION OF TRAITS OF INTEREST FOR THE DEVELOPMENT OF MAIZE IDEOTYPES FOR BIOETHANOL PRODUCTION**

There is an increasing interest in the replacement of conventional energy with alternative fuels from renewable resources, including bioethanol from corn. First generation bioethanol (1G) is obtained from grains from hybrid cultivars which have been selected for their high grain yield and tolerance to biotic and abiotic stresses. The second generation bioethanol (2G) is obtained from lignocellulosic biomass, although this technology has not been developed yet in Argentina.

The aim of this work was to define ideotypes of corn for bioethanol production that would provide the basis for the development of maize breeding programs focused on bioethanol production. The specific objectives were to identify the influence of grain and biomass quality parameters as well as agronomic and productive traits on 1G and 2G bioethanol yield, and then to identify their genetic control.

For this purpose, RCBD experiments with 2 replicates were conducted in 5 environments in the north of Buenos Aires Province. Germplasm consisted of 5 inbred maize lines developed by INTA Pergamino, their ten possible crosses and 15 commercial hybrids. The traits studied were grouped into chemical determinations of grain quality (DQCG), physical determinations of grain quality (DFCG), chemical determinations of biomass quality (DQCB) and agronomic and production traits (CAYP).

The characterization of genotypes and the association between groups of traits were performed by GFA using BLUPs matrix obtained from the analysis of variance across environments. Three grouping factors were obtained. Factor 1 was exclusive of DQCG and DFCG, factors 2 and 3 clustered the traits associated with DQCB and CAYP.

GCA and SCA effects were estimated using the Griffing II and IV fixed-effect designs. GCA for lines L1 and L3 was high and positive for 1G bioethanol yield, lines L1 and L5 had high and positive GCA for 2G bioethanol yield, lines L4 and L1 showed high and positive GCA for grain yield and lines L4 and L2 presented high and positive GCA for biomass yield. GCA effects were more important than SCA effects for 1G bioethanol yield. On the other hand,

SCA effects and GCA effects were found for 2G bioethanol yield with the presence of GxE interaction.

Two corn ideotypes destined for 1G and 2G bioethanol were identified. These results are the basis for developing a specific corn breeding program for bioethanol production based on INTA germplasm, to obtain specific hybrids for the biofuel industry that ensure high bioethanol yields with lower production costs.

# **INTRODUCCIÓN GENERAL**

### 1. Crisis energética global y la necesidad del uso de biocombustibles sostenibles

Actualmente los desafíos que el planeta enfrenta son la inminente crisis energética y el cambio climático. En la matriz energética global correspondiente al 2015, el consumo de energía primaria consistió en un 86 % de combustibles fósiles (36 % de petróleo, 27 % de gas y 23 % de carbón) y una participación del 14 % de fuentes de energías renovables y alternativas. En relación a la crisis energética, los combustibles fósiles son recursos finitos, con una amenaza constante de reducción de las reservas mundiales a medida que no se descubran nuevos reservorios, sumado a un incremento anual del consumo de energía de la población (Abas *et al.*, 2015). Se ha reportado que, a las tasas de consumo actuales, el suministro de petróleo, gas natural y carbón solo podrán durar otros 45, 60 y 120 años, respectivamente (Guo *et al.*, 2015). Con respecto al cambio climático, consecuencia del incremento de emisiones de gases de efecto invernadero (GEI) a la atmósfera, el creciente consumo de los combustibles fósiles también presenta un problema debido a las mayores emisiones de GEI en comparación con otras fuentes de energías renovables. Las concentraciones de GEI, dióxido de carbono y metano, aumentan vertiginosamente, por ejemplo, la concentración de  $CO_2$  ha superado las 400 ppm frente a las 280 ppm de la era preindustrial y a su vez se ha registrado en el mismo periodo un incremento de 2 °C de temperatura máxima a nivel global (WMO, 2017).

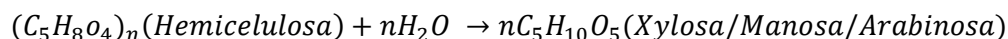
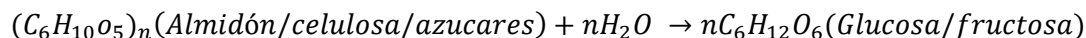
En respuesta a estos desafíos, en 1994 entró en vigencia el Convenio Marco Naciones Unidas sobre el Cambio Climático conocido como la Convención del Cambio Climático. En este Convenio si bien no se establecieron acciones concretas para mitigar o limitar las emisiones de GEI y la participación de distintos países estuvo acotada a unos pocos, se abrió el debate acerca de la problemática ambiental. En 1997, en el contexto de la Tercera Conferencia de la Parte del Convenio (COP3), se aprobó el Protocolo de Kioto que comprometió a los países industrializados a estabilizar las emisiones de GEI. En la primera fase del Protocolo de Kioto (2005 - 2012) los países desarrollados participantes asumieron el compromiso de reducir 5 % sus emisiones de GEI en relación al año 1990, mientras que para la segunda fase (2013 - 2020) algunos países de la Unión Europea asumieron una reducción del 20 % de emisiones de GEI. Actualmente, este Protocolo fue sustituido por el acuerdo alcanzado en la Cumbre de París (2015) y la operatividad del mismo se definió en Marrakesh 2016 (Aldás Berruezo y Díaz Jiménez 2017, Naciones Unidas, 2016). Si bien las expectativas propuestas no fueron alcanzadas, las políticas de cambio climático acompañadas por el alza del precio de los combustibles fósiles impulsaron la búsqueda y

el desarrollo de combustibles que sean sostenibles, ecológicos, económicos y amigables con el medio ambiente obligando al mundo a desarrollar energías renovables alternativas (Niphadkar *et al.*, 2018).

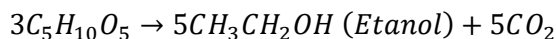
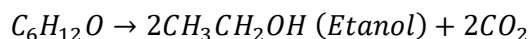
Los biocombustibles pertenecen al grupo de esas energías alternativas, son obtenidos a partir de material orgánico, y pueden provenir de cultivos con aptitud energética (maíz, sorgo y caña de azúcar), de residuos de cultivos (rastreo y mazorcas de maíz, paja de arroz, cáscara de arroz) y de subproductos de la agroindustria del bioetanol, biodiesel y biogás (Bajpai, 2013).

La industria del bioetanol encontró un rol significativo ante la problemática del cambio climático (Monteiro Salles-Filho *et al.*, 2016). El bioetanol es producido mediante la fermentación alcohólica de la fracción amilácea del grano y de la fracción celulósica de la biomasa (Tao y Aden, 2011). El proceso de obtención de bioetanol mediante fermentación alcohólica contempla un pretratamiento termoquímico de la materia prima seguido de hidrólisis enzimáticas, obtención de azúcares simples [1] y posterior conversión a etanol mediante el proceso de fermentación [2] que involucra las siguientes reacciones bioquímicas (Himmel, 2007; Guo *et al.*, 2015):

#### Obtención de azúcares simples [1]



#### Fermentación de azúcares simples [2]



En función del origen de la materia prima empleada para la obtención de biocombustibles, existe una diferenciación semántica que permite discriminarlos. Los biocombustibles de primera generación hacen referencia al bioetanol obtenido a partir de cultivos agrícolas destinados mayormente a la alimentación humana y animal, a diferencia de los biocombustibles de segunda generación que emplea compuestos lignocelulósicos que no proceden de cultivos relacionados directamente con la producción de alimentos (Guo *et al.*, 2015). Tanto el consumo de los biocombustibles de primera como de segunda generación



significa emitir menores cantidades de  $CO_2$  en la ecuación final de balance del carbono ya que el material vegetal proveniente emplea esta molécula para crecer y desarrollarse en el proceso de fotosíntesis sin ocasionar un aumento neto de  $CO_2$  en la atmósfera (Naik *et al.*, 2010).

## 2. Cultivo de maíz

### 2.1. Generalidades del cultivo

Es un cereal de importancia económica a nivel mundial ya sea como alimento humano, para el ganado o como materia prima de un gran número de productos industriales (Paliwal, 2001). El trigo, el arroz y el maíz son las especies más ampliamente cultivadas y constituyen la base de la alimentación humana (Reeves, 2016). A nivel mundial, el maíz es el segundo cereal de mayor producción, estando en el primer lugar el trigo y en el tercero el arroz. Sin embargo, entre las economías en desarrollo, el maíz ocupa el primer lugar en América Latina y en África (Dowswell, 2019).

El maíz, *Zea mays* L., es una especie diploide ( $2n = 20$ ) que pertenece a la familia *Poaceae* tribu *Maydeas*, y es la forma cultivada del género *Zea*. Es una planta anual alógama, monoica, con flores unisexuales, presenta polinización anemófila y los granos de polen pueden ser dispersados por el viento en un radio de hasta 1000 m. La inflorescencia masculina se conoce como panoja y es apical, a diferencia de las inflorescencias femeninas que se localizan en las yemas axilares de las hojas, y se conocen como mazorcas o espigas. En la mazorca se encuentran los granos, éstos se clasifican botánicamente como un fruto seco indehisciente llamado cariopse, insertado en un raquis cilíndrico o marlo. El grano se compone de cuatro estructuras (pericarpio, pedicelo, germen y endospermo) que le confieren propiedades físicas y químicas (color, textura, tamaño, composición química, etc.) que han sido importantes en la selección del grano como alimento (Johnson, 2000; Kato *et al.*, 2009).

El maíz tiene una alta eficiencia en el uso de la radiación (EUR) debido a su metabolismo de fijación de carbono de vía  $C_4$ , no presenta fotorrespiración detectable y alcanza ritmos fotosintéticos entre 30 y 40 % mayores que especies con fijación de carbono tipo  $C_3$ . Esta gramínea es una de las especies cultivadas con mayor eficiencia en la captación de energía, uso del agua y con alto potencial para la producción de carbohidratos por unidad de superficie y tiempo (Aldrich *et al.*, 1975; Taylor *et al.*, 2010; Cirilo *et al.*, 2012).

## 2.2. El cultivo en Argentina

La región de cultivo de maíz se extiende principalmente entre los paralelos 31° y 40° Latitud Sur y entre los meridianos 57° y 65° Longitud Oeste en la pampa húmeda y subhúmeda argentina. La zona núcleo maicera está comprendida entre las isotermas de 17 °C al norte y de 15 °C al sur y entre las isohietas de 1000 mm y 800 mm de lluvias anuales promedio, decreciendo de noreste a suroeste comprendiendo el noroeste de la provincia de Buenos Aires y el sur de las provincias de Santa Fe y Córdoba (Totis de Zeljkovich, 2012)

La temperatura y el fotoperiodo son las variables ambientales que más influyen sobre el desarrollo del cultivo de maíz. La mayoría de las etapas ontogénicas del maíz reconocen una temperatura base cercana a 8 °C y una máxima en la cual cesa el desarrollo entre 40 y 44 °C. Debido a que el fotoperiodo tiene escasa influencia en las etapas vegetativas, la temperatura es el principal factor que modula el desarrollo hasta el comienzo de la floración. La respuesta al fotoperiodo es de tipo cuantitativa y de día corto con un umbral de 12,5 horas (Totis de Zeljkovich, 2012, Cirilo *et al.*, 2012).

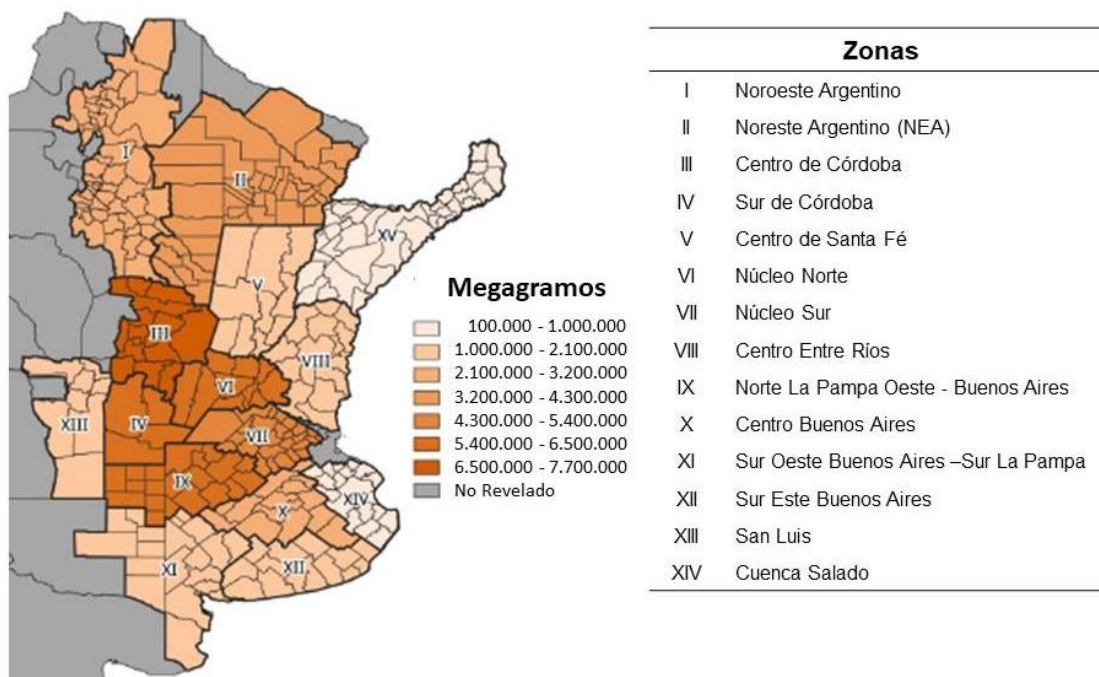
Otro factor ambiental que influye notoriamente en el crecimiento y en el desarrollo del cultivo es la disponibilidad hídrica, siendo la evapotranspiración máxima del cultivo de 650 mm desde la siembra hasta madurez fisiológica. Se han reportado reducciones de rendimiento de 40 kg por hectárea por cada mm de diferencia entre las lluvias y la evapotranspiración del cultivo, siendo los 15 días previos y posteriores a la floración el periodo crítico (Cirilo *et al.*, 2012).

En Argentina el maíz es el cereal de mayor importancia y sobresale como uno de los principales países productores, junto con Estados Unidos, China, Brasil y la Unión Europea, siendo el cuarto productor de maíz a nivel mundial con una participación del 3,4 % y ocupa la tercera posición entre los países exportadores con un promedio del 15,9 % de las toneladas comercializadas a nivel mundial (FADA, 2019 - Datos correspondientes al periodo 2015-18).

A nivel nacional es el cultivo de mayor producción de granos y el segundo en superficie sembrada, después del cultivo de soja. En la campaña 2018/19 la superficie sembrada total fue 9.039.594 ha con una producción nacional de 56.860.704 Mg y un rendimiento promedio de 7,9 Mg.ha<sup>-1</sup>. La zona núcleo maicera (Figura 1, Zonas VI y VII) muestra los volúmenes

más altos de producción a nivel nacional (MAGyP, 2020, Bolsa de Cereales de Buenos Aires 2020).

**Figura 1.** Producción de maíz por zonas en Argentina (Mg), datos correspondientes a la campaña 2018-19.



Adaptado Bolsa de Cereales de Buenos Aires 2020, Informe N°5 de cierre de campaña 2018-19

El maíz posee dos destinos, el mercado externo (en su mayor parte grano sin transformar) y el mercado interno para su agregado de valor en los diferentes eslabones de la cadena. En el 2017 el 52 % de la producción argentina tuvo como destino la exportación, seguida por el consumo ganadero (producción de carnes, huevos y leche) con un 27 %. En tercer lugar, con un 14 % se ubica el sector molinero, compuesto de las moliendas seca y húmeda (4 %), de alimento balanceado (7 %) y de bioetanol (3 %). El 7 % restante corresponde a otros usos, por ejemplo, la producción de semillas (FADA, 2019).

El grano de maíz permite agregar valor a través de sus derivados, como es su transformación en carnes, leche y huevos y transformaciones industriales (almidón, aceite, alimentos balanceados, biocombustibles, pegamentos, bioplásticos, etc.). Una de las maneras más nuevas de agregar valor al maíz es la producción de bioetanol, con una fuerte presencia en las provincias de Córdoba, San Luis y Santa Fe y un consumo total de 1,49 millones de toneladas en el año 2017 (FADA, 2019).

### 3. Características del grano y la biomasa de maíz

#### 3.1. Estructura y composición del grano de maíz

La calidad del maíz para sus distintos usos está determinada principalmente por la estructura física y la composición química del grano. Éstas identifican a los cultivares por uno o más atributos, en particular dureza, textura, composición química, etc. (Savani y Sorlino, 2004; Robutti, 2012).

El pericarpio es la cubierta externa del grano y representa el 7 % de su peso total. Su función principal es protegerlo contra estreses bióticos y abióticos, además de preservar el valor nutritivo. Está compuesto principalmente por fibras de celulosa y hemicelulosas que recubren a todo el cariopse a excepción del pedicelo, que es el punto de sujeción del grano al marlo, también formado por fibras. El germen constituye aproximadamente el 12 % del peso del grano y posee el tejido de reserva primario necesario para la germinación y posterior desarrollo de la plántula. Contiene aproximadamente el 85 % de los lípidos totales y la mayoría de las albúminas y globulinas (Watson, 1987). En la industria de obtención del bioetanol, el germen puede ser considerado un co-producto que se separa en la molienda húmeda conteniendo aproximadamente entre 40 y 50 % de aceite o en una etapa de modificación de la molienda seca conteniendo aproximadamente 20 – 25 % de aceite (ambos rendimientos expresados en peso en base seca) (Moreau *et al.*, 2005).

La mayor proporción del grano está dada por el endospermo (80 % del peso del grano aproximadamente) y es el segundo tejido de reserva, fuente de energía y proteínas para la germinación. Está formado por una capa de aleurona y un endospermo almidonoso (Johnson, 2000). En la Tabla 1 se presenta una descripción de la composición química de las distintas partes que componen el grano de maíz tipo dentado expresado en g.100.g<sup>-1</sup> de materia en base seca (Watson, 1987).

**Tabla 1.** Composición química del grano de maíz tipo dentado y sus distintas fracciones en porcentaje (base seca – b.s.)

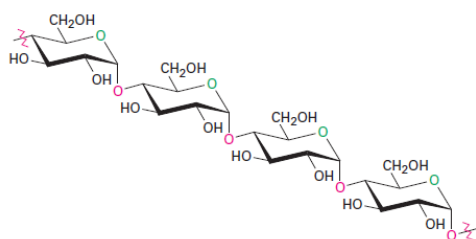
| Fracción     | Peso seco de cada fracción (%) | Composición química % (b.s.) |             |             |
|--------------|--------------------------------|------------------------------|-------------|-------------|
|              |                                | Almidón                      | Proteína    | Aceite      |
| Endospermo   | 81,8 – 83,5                    | 86,4 – 88,9                  | 6,9 – 10,4  | 0,7 – 1,0   |
| Germen       | 10,2 – 11,9                    | 5,1 – 10,0                   | 17,3 – 19,0 | 31,1 – 35,1 |
| Pericarpio   | 5,1 – 5,7                      | 3,5 – 10,4                   | 2,9 – 3,9   | 0,7 – 1,2   |
| Grano entero | 100                            | 67,8 – 74,0                  | 8,1 – 11,5  | 3,9 – 5,8   |

Adaptado de Watson, 1987

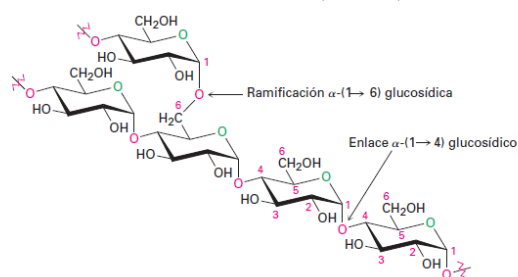
El almidón es un homopolímero de glucosa cuyas unidades monoméricas están unidas por enlaces  $\alpha(1 \rightarrow 4)$  – *glicosídicos*, compuesto por 23 - 25 % de amilosa y 75 – 77 % de amilopectina. La amilosa (Figura 2.a) es un pequeño polímero lineal que se encuentra enrollado en forma de hélice y consiste de varios cientos de moléculas de glucosa unidas entre sí por enlaces  $\alpha(1 \rightarrow 4)$  – *glicosídico*. La amilopectina (Figura 2.b) es un polímero de mayor complejidad ya que contiene ramificaciones con enlaces  $\alpha(1 \rightarrow 6)$  – *glicosídicos* cada 25 unidades de glucosa, aproximadamente, conectadas linealmente por enlaces  $\alpha(1 \rightarrow 4)$  – *glicosídicos* (Mc Murry, 2008).

**Figura 2.** Estructura química de las moléculas que conforman al almidón.

a) Amilosa: enlaces  $\alpha(1 \rightarrow 4)$



b) Amilopectina: enlaces  $\alpha(1 \rightarrow 4)$  con ramificaciones  $\alpha(1 \rightarrow 6)$



Tomado de McMurry, 2008

Los genotipos de maíz con diversos fondos genéticos presentan tipos de almidón con distinto comportamiento funcional, presentando diferencias en las propiedades térmicas de los procesos de gelatinización y retrogradación. Esto puede deberse al efecto del tamaño de los gránulos de almidón, su cristalinidad, la relación amilosa/amilopectina y la presencia de otros componentes químicos dentro de los mismos (Eyhérabide *et al.*, 2007-a; Eyhérabide *et al.*, 2007-b). El gránulo de almidón no es digerible por enzimas por lo que se deben utilizar procesos de calor-humedad para transformarlo en una estructura accesible a la digestión enzimática.

La gelatinización y la retrogradación son dos propiedades físicas importantes del almidón y de particular interés en aplicaciones comerciales del mismo (Delcour y Hosene, 2010). La gelatinización es un proceso irreversible de destrucción del orden molecular del almidón cuando se calienta en presencia de exceso de agua, pasando de una estructura semi-cristalina a otra amorfa que produce cambios irreversibles en sus propiedades, precedida por un hinchamiento de los gránulos de almidón, progresiva solubilización y pérdida de birrefringencia y cristalinidad de los gránulos. La retrogradación es un proceso que se

produce cuando el almidón gelatinizado comienza a reasociarse, lo que lleva a recuperar una estructura más ordenada o cristalina, por lo que puede entenderse como el proceso opuesto a la gelatinización. La retrogradación del almidón implica una rápida gelificación de la amilosa mediante la formación de segmentos de dobles hélices y una lenta recristalización de cadenas cortas de amilopectina (Eliasson, 2017; BeMiller, 2019).

A través del mejoramiento genético se han desarrollado genotipos con aptitudes distintas para destinos o usos especiales a causa de modificaciones en la proporción típica (1:3) de amilosa-amilopectina. El maíz de alta amilosa o *amilomaíz* presenta en homocigosis el alelo recesivo *ae* (amilosa *extender*) ubicado en el cromosoma cinco, cuyo efecto es aumentar el contenido relativo de amilosa en el endospermo. Comercialmente se distinguen dos clases de cultivares con granos de alta amilosa para la molienda húmeda: híbridos de clase V que producen granos con un contenido de 55 a 60 % de amilosa e híbridos de clase VII con un contenido de 70 a 80 % de amilosa (Ferguson, 2001). La variabilidad en el contenido de amilosa responde a la acción de genes modificadores de efecto pequeño, en presencia del locus amilosa *extender* en homocigosis para el alelo recesivo (*ae ae*). Fenotípicamente los granos presentan poco brillo y son translúcidos. El maíz *waxy* posee sólo el componente de almidón ramificado (amilopectina) y está desprovisto (o sólo posee trazas) de la fracción lineal de amilosa. Este rasgo está controlado por el alelo recesivo del gen *wx* en homocigosis. La sola presencia de ambos alelos recesivos (*wx wx*) determina el nivel de amilopectina, sin efecto conocido de genes modificadores. El aspecto fenotípico del grano es de tipo ceroso (Ferguson, 2001; White, 2001).

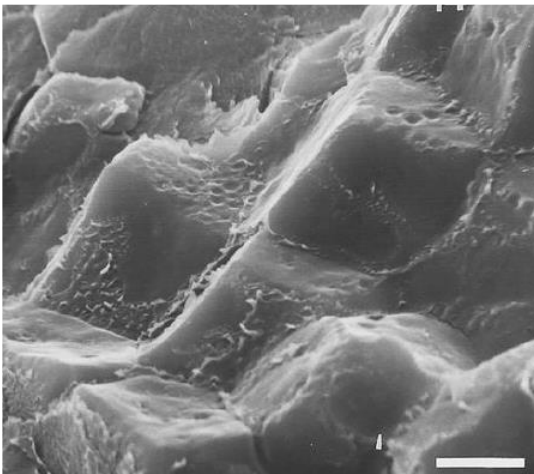
Los gránulos de almidón se encuentran en el endospermo en distintas estructuras moleculares y según sus arreglos dan lugar a variaciones en el aspecto y propiedades del endospermo: endospermo vítreo o translúcido y endospermo opaco. Si bien suelen denominarse endosperma duro y blando respectivamente, en realidad la dureza del grano y la opacidad del mismo se deben a múltiples factores y no se debe asumir que un endospermo es suave sólo porque es opaco (Watson, 1987; García-Lara *et al.*, 2019).

El endosperma vítreo (Figura 3.a) se caracteriza por ser una región del grano, cercana a la aleurona, translúcida, de color amarillo oscuro, constituida por gránulos de almidón en forma de polígonos que se encuentran fuertemente empaquetados por una matriz proteica, principalmente formada por zeínas (proteínas de clase prolamina). En cambio, el endospermo opaco (Figura 3.b) se caracteriza por ser una región cercana al centro del

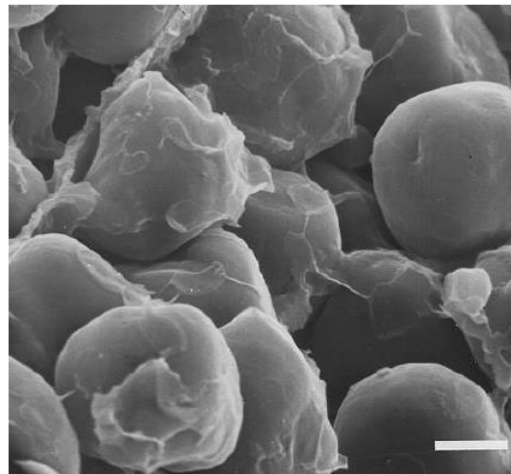
grano, de color amarillo mate e integrada por gránulos de almidón esféricos cubiertos por una matriz escasa de proteínas, más laxa que la de la zona vítrea y que presenta muchos espacios de aire que provocan la apariencia opaca. Durante el secado del grano, en el endospermo vítreo la proteína se deshidrata y produce un encogimiento de la matriz, lo que provoca una unión proteína-almidón lo suficientemente fuerte como para retener los gránulos de almidón cada vez más cerca. En esta etapa, los gránulos de almidón son flexibles y al estar muy apretados adoptan formas poligonales. En cambio, en el endospermo opaco durante el secado de los granos los enlaces proteína-proteína se rompen, dando espacios de aire intergranulares, manteniendo los gránulos de almidón esféricos. Si bien ambas partes del endospermo tienen concentraciones de proteínas similares, los tipos de proteína, la composición aminoácidica y su distribución difieren (Delcour y Hosenev 2010; García-Lara *et al.*, 2019).

**Figura 3.** Micrografías electrónicas de secciones transversales de los dos tipos de endospermos que conforman al grano de maíz.

a) Endospermo vítreo, gránulos de almidón con forma poligonal y estructura compacta sin espacios aéreos.



b) Endospermo opaco, gránulos de almidón de forma esférica y estructura con espacios aéreos.



Imágenes tomadas de Delcour y Hosenev 2010

Entre el 8 % y el 15 % del endospermo está compuesto por proteínas. Aproximadamente entre el 60 % y el 70 % de la proteína total del grano se encuentra en el endospermo, el resto se distribuye entre el germen y el salvado (Wilson, 1987). Las proteínas se pueden clasificar según la composición de aminoácidos, el peso molecular y la solubilidad. De acuerdo a su solubilidad se clasifican en cuatro fracciones: albúminas y globulinas, que tienen funciones metabólicas y estructurales, y gliadinas y glutelinas, que son las proteínas

de reserva, denominadas prolaminas (Passarella y Savin, 2003). Las cuatro clases principales de proteínas de maíz fueron descritas por Osborne (1897) según su solubilidad en los distintos solventes mediante una extracción secuencial. En mayor proporción se encuentran las prolaminas. A este grupo pertenecen las diferentes zeínas solubles en alcohol y que representan el 40 % de la proteína total. Luego se encuentran las glutelinas que representan el 39 % de la proteína total y son solubles en soluciones alcalinas (NaOH al 5 %). En menor proporción se presentan las albúminas, solubles en agua, y las globulinas, solubles en medio salino, que representan el 8 % y 9 % de la proteína total respectivamente (Larkins, 2019).

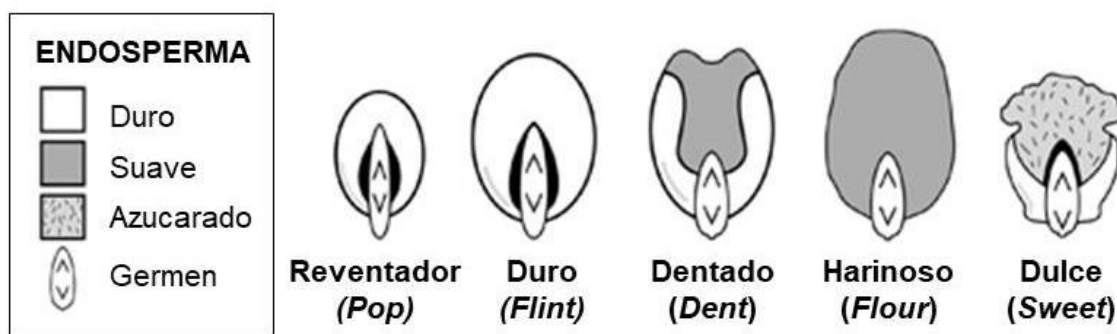
En líneas generales, estas clases de proteínas se presentan en distintas proporciones en el endospermo y en el germen. El total de proteína del endospermo está dado por 47 % de zeína, 39 % de glutelina, 4 % de albúmina y 4 % de globulina. La proteína total del germen está dada por 5 % de zeína, 25 % glutelina, 30 % albúmina y 30 % globulina (Shukla y Cheryan, 2001). Estas diferencias de contenido proteico también se presentan entre fracciones del endospermo. Landry *et al.* (2004) estudiaron el contenido de proteínas y su distribución en las fracciones vítrea y opaca del endospermo en ocho líneas endocriadas de maíz que presentaban un rango de vitreosidad de 42 a 95 %. Ellos determinaron que el endospermo vítreo estaba compuesto por 4 % de albúminas-globulinas, 79 % zeínas y 15 % glutelinas a diferencia del endospermo opaco que estaba compuesto por 13 % de albúminas-globulinas, 48 % zeínas y 35 % glutelinas.

La importancia de la proporción relativa entre tipos de endospermo (vítreo/opaco) radica en que determina la aptitud de uso final del grano en los procesos industriales de la molinería (Robutti, 2012). La dureza del grano está relacionada no sólo con las características químicas del grano, sino también con las físicas (Narváez-González *et al.*, 2006). Éstas últimas le otorgan resistencia mecánica dada por el empaquetamiento de los gránulos de almidón dentro de la matriz proteica (Chandrashekary Mazhar, 1999), por lo que la dureza del grano también es atribuible a las complejas interacciones entre los componentes del endospermo, principalmente proteínas y almidón (Robutti, 2012). Dentro de esas interacciones participan las zeínas que se agrupan en "cuerpos de zeína" distribuidos uniformemente entre los gránulos de almidón en el citoplasma de las células del endospermo del maíz (Duvick, 1961; Chandrashekary Mazhar, 1999).



Desde un enfoque comercial, los granos de maíz se clasifican teniendo en cuenta la dureza del endospermo acompañado por otras características en: reventadores (*pop corn*), duros (*flint*), dentados y/o semidentados (*dent* ó *semi-dent*), harinosos (*floury*) y dulce (*sweet*) (Figura 4). La cuantificación del nivel dureza del endospermo se puede realizar a través de la determinación de características relacionadas, tales como el peso hectolítrico, la relación de molienda, el índice de flotación y la densidad del grano, como así también de forma visual de un corte longitudinal del cariopse para evaluar la proporción de endospermo vítreo y opaco (Robutti, 2012).

**Figura 4.** Clasificación comercial de granos de maíz de acuerdo a la distribución de los tipos de endospermo en el grano.



Adaptado de [https://aces.nmsu.edu/pubs/\\_h/H232/welcome.html](https://aces.nmsu.edu/pubs/_h/H232/welcome.html)

El grano tipo reventador o *pop corn* presenta un endospermo duro y es el más pequeño, con un pericarpio de mayor grosor. Su uso principal es para hacer palomitas de maíz ya que revientan y su endospermo se expande cuando se calientan hasta alrededor de 170 °C. El grano tipo duro o *flint* tiene una corona redondeada y presenta un endospermo vítreo constituido de almidón duro córneo con sólo una pequeña parte de almidón blando o suave en el centro del grano. El maíz dentado o *dent* presenta una hendidura en la corona que se forma debido a la contracción del almidón blando ubicado en la parte superior del grano durante el secado del cariopse. El grano de tipo harinoso o *floury* posee un endospermo compuesto casi exclusivamente de almidón muy blando y su corona puede ser redondeada o plana. La proporción de endospermo harinoso versus vítreo establece la dureza del grano y existe una graduación de niveles. La determinación de la dureza del endospermo es importante ya que afecta la eficiencia de los procesos de molienda seca y húmeda, al modificar las condiciones y tiempo de cocción óptimos. Los granos del tipo dulce o *sweet* tienen alto contenido de azúcar, su destino es la alimentación humana cuando la mazorca aún está verde con 70 % de humedad. Se caracterizan por presentar granos arrugados en

su madurez debido al colapso del endospermo que contiene muy poco almidón (Johnson, 2000; Paliwal, 2001; Garcia Lara, 2019).

La composición química de las estructuras del grano de maíz cambia de acuerdo a su morfología (Figura 4). Por ejemplo, en las estructuras de un grano de tipo dentado el endospermo representa en promedio aproximadamente el 82 a 84 % y está formado por 87 % de almidón, 8 % de proteína y 0,6 % de lípidos, a diferencia del germen que constituye el 10-12 % y está formado por 8 % de almidón, 18 % de proteína y 33 % de lípidos. Las cenizas y las fibras se encuentran concentradas en el pericarpio y representan el 7 % del peso total del grano (Watson, 1987).

### 3.2. Estructura y composición de la biomasa de maíz

Los componentes de la pared celular resultan de interés en diversas áreas, desde las aplicaciones del maíz en nutrición humana o animal hasta la producción de biocombustibles (Dey *et al.*, 1997; Mc Donald *et al.*, 1999).

La pared celular vegetal (Figura 5) está compuesta por tres capas: la laminilla media, la pared celular primaria, y la pared celular secundaria. La laminilla media es la capa externa compuesta por pectinas y está en contacto con las células vecinas. La pared celular primaria está compuesta por microfibrillas de celulosa confinadas en una matriz de hemicelulosa, compuestos fenólicos, pectinas, proteínas estructurales, enzimas y proteínas involucradas en vías de señalización. La pared celular secundaria está formada mayormente por celulosa, glucuronoarabinosilanos (GAX), ácidos hidroxycinnámicos y lignina (Dey *et al.*, 1997; Barros-Ríos *et al.*, 2011).

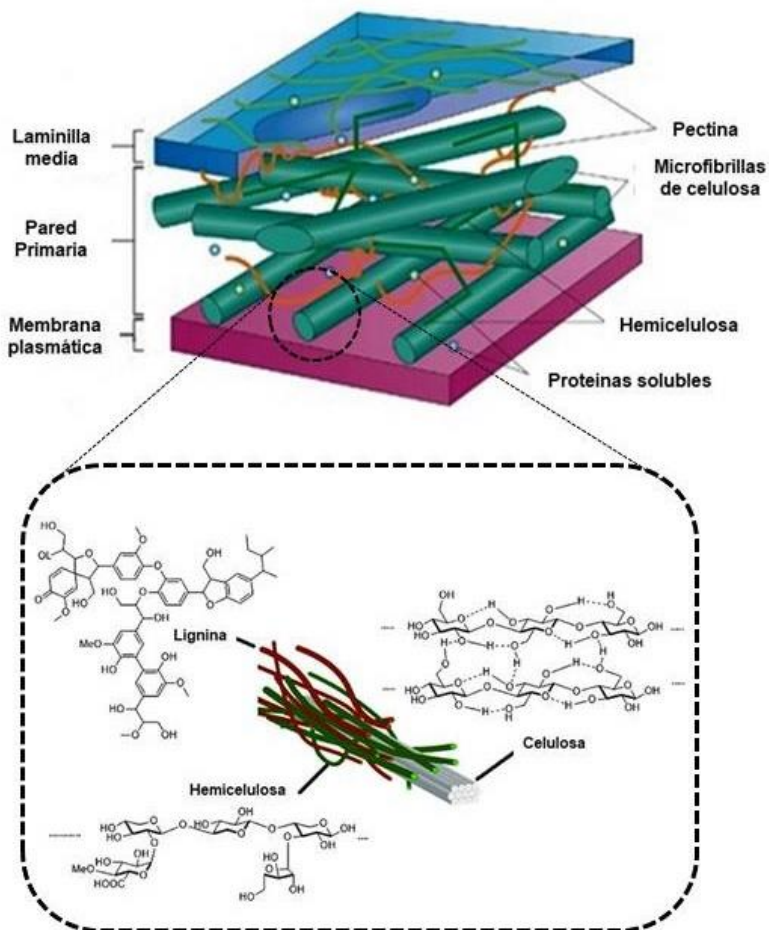
Por su abundancia, la celulosa (Figura 5) es el principal polímero estructural en el reino vegetal, presente tanto en la pared celular primaria como secundaria. Su estructura se identifica por una cadena lineal de moléculas de *D – glucosa* unidas por un enlace  $\beta(1 \rightarrow 4)$  glicosídico. Estas cadenas mantienen enlaces estables intramoleculares e intermoleculares por uniones no covalentes de puente de hidrógeno otorgándole al polímero una elevada resistencia a la tracción, insolubilidad, estabilidad química y resistencia al ataque químico o enzimático. En los vegetales la celulosa de la pared celular se encuentra estrechamente unida, física y químicamente, a otros componentes, en especial a la hemicelulosa y lignina (Grant Reid, 1997; Mc Donald *et al.*, 1999; Mc Murray, 2008).

La hemicelulosa (Figura 5) es un heteroglucano soluble en medio alcalino, y estructuralmente está compuesta principalmente por moléculas de *D* – glucosa, *D* – galactosa, *D* – manosa, *D* – xilosa y *L* – arabinosa en distintas combinaciones y con diversos enlaces glicosídicos. En maíz y en otras especies del orden *Poales* la hemicelulosa está formada principalmente por una cadena lineal de residuos de xilosa con enlaces  $\beta(1 \rightarrow 4)$  y sustituciones de  $\alpha - L - arabinosa$  y  $\alpha - D - \text{ácido glucurónico}$ , colectivamente llamado *GAX* (Grant Reid, 1997; Mc Donald *et al.*, 1999).

La lignina (Figura 5) es el segundo biopolímero más abundante de la naturaleza luego de la celulosa. Desempeña una función fundamental en el soporte estructural de las plantas, además de conferir resistencia química y biológica a la pared celular. Es un polímero altamente ramificado formado a partir de tres derivados del fenilpropano: alcohol cumárico, alcohol coniferílico y alcohol sinapílico, por lo que no es un carbohidrato. Su complejidad química y la aparente falta de regularidad en su estructura hacen que la lignina tenga especial importancia en la nutrición animal y en otros procesos por su gran resistencia a la degradación química. La incrustación física de las fibras vegetales en la lignina las hace inaccesibles a las enzimas que podrían digerirlas (Lewis y Yamamoto, 1990; Mc Donald *et al.*, 1999).

La calidad de las materias primas celulósicas desde el punto de vista de la nutrición animal está estrechamente relacionada a la composición de la pared celular. Históricamente la fibra fue un término que ha sido utilizado para la caracterización de alimentos y según la metodología físico-química empleada para su cuantificación presenta diversas acepciones (Jaimes *et al.*, 2018).

**Figura 5.** Estructura de la pared vegetal y sus compuestos químicos principales: Celulosa, hemicelulosa y lignina.



Adaptado de Ilnicka y Lukaszewicz 2015; Li y Takkellapati 2018.

Van Soest (1967) definió nutricionalmente a la fibra como la materia orgánica indigestible por las enzimas del huésped e identificó tres fracciones características mediante un método de solubilizaciones sucesivas con detergentes: FDN (Fibra Detergente Neutro), FDA (Fibra Detergente Ácido) y LDA (Lignina Detergente Ácido). FDN es el residuo que queda tras la extracción con detergentes neutros y se compone de lignina, celulosa y hemicelulosa. Ésta fracción representa el total de la fibra de la pared celular. FDA es el residuo resultante del tratamiento con detergentes ácidos y se estima que esta fracción representa el total de FDN menos la hemicelulosa. LDA es la fracción de FDA no soluble en ácido sulfúrico y éste residuo está formado esencialmente por lignina y se considera que es la fracción de FDA sin celulosa. Por lo tanto, puede estimarse el contenido de hemicelulosa como la diferencia entre FDN y FDA, el contenido de celulosa como la diferencia entre FDA y LDA y el

contenido de lignina como la fracción de LDA, aunque esta fracción contiene además cenizas (Van Soest, 1967; Segura *et al.*, 2007).

El destino principal de la biomasa de maíz es la alimentación animal, como reserva forrajera o suplemento en sistemas intensificados como forraje conservado a través del proceso de ensilaje (Carrete y Scheneiter, 2012). La calidad como alimento está asociada a su valor nutritivo en función a los requerimientos nutricionales de los rumiantes y su capacidad de aprovechamiento (Coors y Lauer, 2001). Esto ha impulsado a los programas de mejoramiento a desarrollar híbridos de maíz destinados especialmente a ensilaje, buscando principalmente un balance entre la concentración de nutrientes por tonelada de materia seca y la alta calidad por elevada digestibilidad de la fibra y bajo contenido de lignina. Un ejemplo de ello es el desarrollo de híbridos con la mutación de nervadura marrón o *bmr* (*brown - mid rib*) lo que conduce a disponer de biomasa de maíz con menor contenido de lignina y consecuentemente mayor digestibilidad. El nombre del gen mutante nervadura marrón se debe a que su expresión fenotípica es una pigmentación marrón – rojiza en la nervadura central de la hoja. Se han reportado cuatro mutaciones genéticas *bmr*, todas originadas en poblaciones naturales, que segregan de forma independiente y presentan herencia recesiva mendeliana. El menor contenido de lignina de los genotipos *bmr* se debe a una lesión en la vía de síntesis de la lignina ocasionando menores concentraciones de varios hidroxycinamatos. Consecuentemente, el efecto específico de la mutación de cada alelo *bmr* depende de las enzimas particularmente afectadas (Barrière y Argillier, 1993; Coors y Lauer, 2001).

#### **4. El maíz como materia prima para biocombustibles**

##### **4.1. Antecedentes del cultivo de maíz para la producción de bioetanol**

El empleo de bioetanol a partir de maíz como combustible data desde tiempos anteriores a la producción comercial de gasolina en 1913. Después de la Segunda Guerra Mundial, el uso de cultivos agrícolas para la producción de combustibles líquidos renovables perdió interés debido al suministro abundante y económico de combustibles fósiles como el petróleo y el gas natural (Bothast y Schlicher, 2005). En la actualidad, el bioetanol a partir de maíz volvió a encontrar su mercado perdido en el siglo XX (Niphadkar *et al.*, 2018).

Actualmente la oferta y la demanda mundial de bioetanol se encuentran lideradas por los Estados Unidos con un 54 % de la producción mundial (59.800 millones de litros de

producción en 2019), seguido por Brasil con el 30 %. Argentina se encuentra luego de la Unión Europea, China, Canadá, India y Tailandia y representa el 1 % de la producción mundial (RFA, 2020).

En el año 2010, bajo el marco de la Ley Nacional N° 26.093 (2006), se estableció que todas las naftas que se expendieran en Argentina debían contener un mínimo de 5 % de bioetanol, aunque su implementación obligatoria se prorrogó hasta el 1° de enero de 2012. El punto de corte de naftas de uso automotor asciende hoy a 12 % de bioetanol (InfoLEG, 2020 - Resolución 37/2016).

En el país operan 13 plantas de producción de bioetanol de primera generación a partir del jugo del tallo de la caña de azúcar y otras cinco plantas de bioetanol de primera generación a partir del almidón del grano de maíz. La producción nacional de bioetanol alcanzó su máximo en el año 2017 con 1,105 millones de m<sup>3</sup> (Figura 6). Inicialmente la producción de bioetanol estuvo asociada solo a la caña de azúcar, por lo que el bioetanol a base de maíz ingresa al mercado en 2012 con un 8.2 % y su volumen de producción se fue incrementando anualmente, superando en varias ocasiones a la caña de azúcar (FADA, 2019). Las regulaciones oficiales indican que el aporte de la caña de azúcar y del grano de maíz a la producción de bioetanol debe ser equivalente (InfoLEG, 2020 - Decreto 543/2016 Art.2).

A diferencia de otros países, en Argentina no se realiza el aprovechamiento de la planta completa para la producción de biocombustibles líquidos. En Estados Unidos el residuo de la cosecha de maíz compuesto por restos de cañas, hojas, marlos y chalas, se procesa y utiliza como materia prima, debido a que gran cantidad de la biomasa del cultivo (aproximadamente el 60 % de la planta) queda en el suelo (Gibbons y Hughes, 2011). Entre las biorefinerías que aprovechan residuos agrícolas de este tipo, ubicadas en Estados Unidos, se encuentran a POET-DMS; Abengoa Bioenergy y DuPont (Morán D., 2015). Esta práctica requiere del establecimiento de criterios de remoción del rastrojo para evitar la erosión y el agotamiento del carbono orgánico del suelo (Johnson *et al.*, 2014). En la región pampeana de Argentina, Alvarez y De Paepe (2019) estimaron que el impacto de la remoción del rastrojo, en los niveles de carbono orgánico del suelo, es nulo si la extracción del mismo no supera el 30%.

En el país la producción de bioetanol lignocelulósico se asoma como una actividad complementaria para agregar otra forma de valor al rastrojo de maíz, más allá de su uso en nutrición animal o su aporte al balance de carbono y la sostenibilidad de las propiedades

físicas de los suelos. La composición química del rastrojo reportada por Loelovich (2014) exhibe contenidos de celulosa (37 %), hemicelulosa (26 %) y lignina (19 %) admisibles para permitir la deconstrucción de la matriz lignocelulósica y obtener suficiente rendimiento para la conversión a etanol (Acevedo, 2018).

**Figura 6.** Ubicación geográfica de las cinco plantas productoras de bioetanol en Argentina a partir de maíz y producción nacional de bioetanol de primera generación en miles de m<sup>3</sup> a partir de maíz y de caña de azúcar desde el año 2009 al 2018.



Adaptado de <https://www.magyp.gob.ar> y FADA, 2019

#### 4.2. Obtención de bioetanol de primera y segunda generación

La planta de maíz puede ser aprovechada en su totalidad por la industria de bioetanol. Los granos pueden ser empleados como materia prima para la obtención de biocombustible de primera generación mediante dos tipos de procesamiento, la molienda seca y la molienda húmeda (o sus modificaciones). Las industrias de bioetanol a partir de molienda seca generan co-productos tales como alimento para animales, conocidos como destilados de granos secos (DDG o DDGs), fibras (compuestas por almidón, celulosa y hemicelulosa) y anhídrido carbónico (CO<sub>2</sub>). En cambio, las plantas industriales de bioetanol a partir de procesos de molienda húmeda obtienen como co-productos aceite, *gluten meal* y *gluten feed* (Bothast y Schlicher, 2005; Tao y Aden, 2011).

El rastrojo de maíz compuesto por los restos de tallos, hojas, chalas y marlos que quedan luego de la cosecha de grano, puede emplearse como materia prima para la obtención de biocombustibles de segunda generación. Las plantas de bioetanol de segunda generación producen co-productos a base de lignina utilizables como fuente de energía para la producción interna de vapor y electricidad (Huang *et al.*, 2008; Kumar y Singh, 2019).

El proceso de obtención de bioetanol, independientemente de la tecnología de procesamiento utilizado o del tipo de bioetanol producido (primera o segunda generación),

consiste en las siguientes etapas (Figura 7): (I) pretratamiento (mecánico y/o termoquímico y/o biológico), (II) hidrólisis de los carbohidratos complejos y posterior sacarificación, (III) fermentación de los monómeros fermentables (hexosas y pentosas) obtenidos a etanol y (IV) destilación y deshidratación del etanol (Bothast y Schlicher, 2005).

El objetivo del pretratamiento es romper las estructuras cristalinas y poliméricas presentes en el material vegetal con el fin de aumentar la superficie de reacción para la etapa siguiente de hidrólisis (Franco *et al.*, 2009).

En el proceso de obtención de bioetanol de primera generación por molienda seca, el pretratamiento permite disminuir el tamaño de las partículas del grano de maíz y por molienda húmeda el pretratamiento de maceración del grano con SO<sub>2</sub> posibilita la posterior extracción del germen y la fibra (Bothast y Schlicher, 2005).

En cambio, en el proceso de obtención de bioetanol de segunda generación existen diversas estrategias de pretratamientos. Las moléculas de lignina, celulosa y hemicelulosa del rastrojo constituyen un complejo estructural que actúa como barrera biológica que restringe los medios de reacción o el contacto de las enzimas con las moléculas de polisacáridos en el proceso de hidrólisis, por lo que esta etapa de pretratamiento es un punto crítico para solucionarlo. Usualmente la biomasa se trata con productos químicos (ácidos, bases o incluso agua) a diferentes temperaturas y concentraciones, dependiendo de la sustancia química empleada, lo que da lugar a una hidrólisis parcial o total de la hemicelulosa y redistribución de la lignina (Franco *et al.*, 2009; Zhao *et al.*, 2018).

La hidrólisis enzimática permite romper los enlaces glicosídicos de los polímeros por enzimas para obtener moléculas más sencillas que serán empleadas en la fermentación. Esta etapa también se denomina licuefacción. En este paso la diferencia entre los biocombustibles producidos radica en el tipo de enzima que se emplea ligado al enlace químico que se requiera romper. Cuando la materia prima es el grano de maíz, el polisacárido a hidrolizar es el almidón y la enzima empleada para romper los enlaces de la amilosa y la amilopectina es la  $\alpha$  – *amilasa*. Al final de la licuefacción se obtienen dextrinas solubles de cadena corta no fermentables (en algunos casos se complementan con enzimas proteasas que actúan sobre las proteínas asociadas al almidón en el endospermo).

Para que aquellas moléculas de dextrina sean fermentables se necesita un paso adicional llamado sacarificación y se emplea la enzima  $\alpha$  – *glucosidasa*. Su efecto principal es liberar



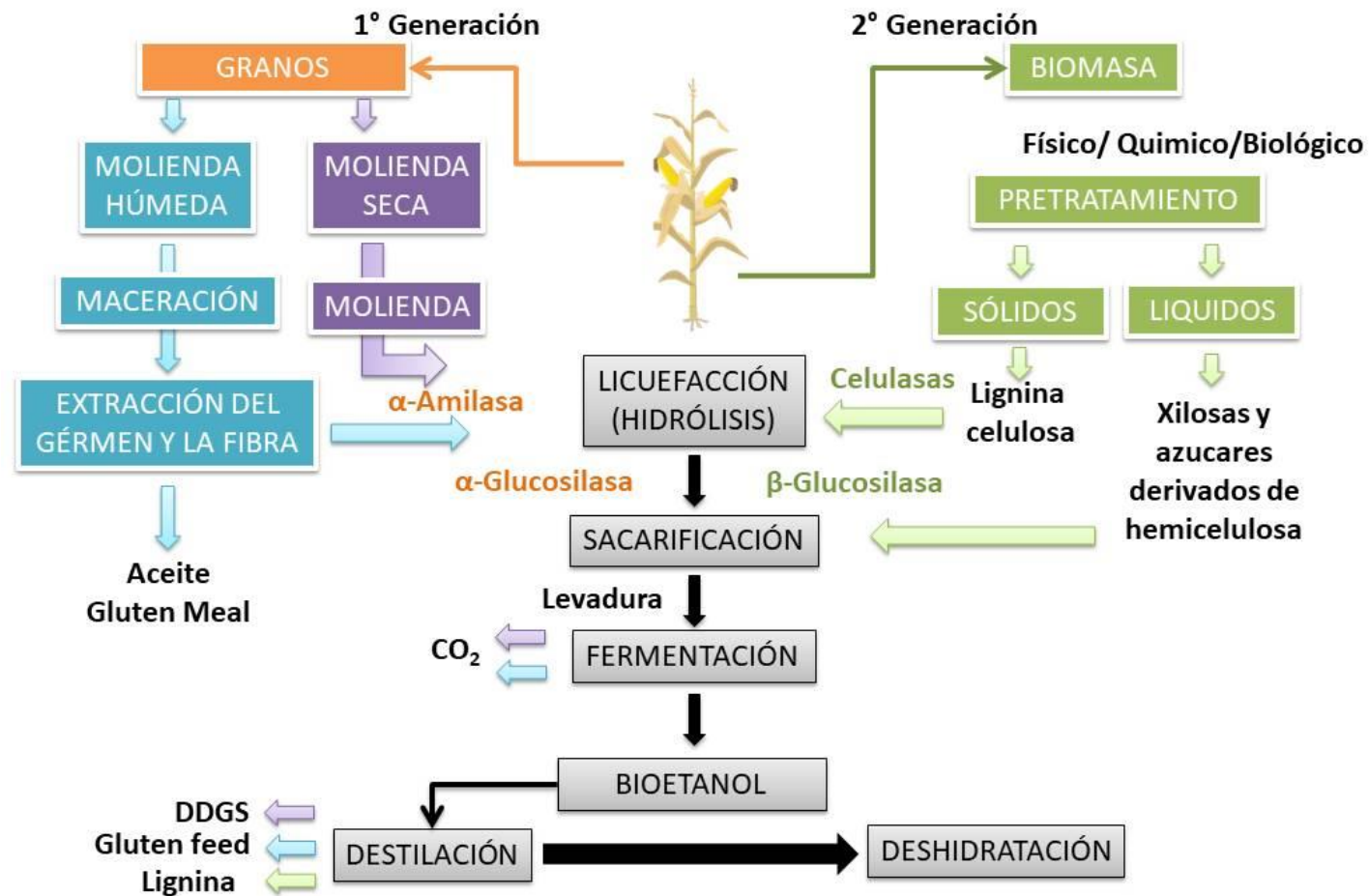
las moléculas de glucosa del extremo no reductor de las dextrinas, aportando al medio monómeros de glucosa fermentables.

Cuando la materia prima es la biomasa o el rastrojo del maíz se utiliza un conjunto de enzimas que actúan sinérgicamente sobre la celulosa compuesto por endoglucanasas (cortan al azar en el interior de la celulosa amorfa, generando oligosacáridos de varias longitudes) y exoglucanasas (actúan de una manera progresiva en los extremos reductores y no reductores de las cadenas del polisacárido, liberando glucosa y/o celobiosa). En la etapa de sacarificación se emplea  $\beta$  – *glucosidasas* que hidrolizan las celodextrinas solubles y la celobiosa a glucosa (Gutiérrez-Rojas *et al.*, 2015; Kumar y Singh, 2019).

En la fermentación los monómeros fermentables, producto de la hidrólisis y la sacarificación de las dextrinas, son convertidos a bioetanol por la acción de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* o cepas de levaduras estrechamente relacionadas. Ante el impedimento de éstas de fermentar pentosas, se reportaron el uso de cepas de levaduras no tradicionales (*Pachysolen tannophilus*, *Candida shehatae*, *Pichia stipitis*, *Candida tropicalis*, *Hansenula polymorpha* y *Debaryomyces hansenii*) que participan en la fermentación de D-xilosa a etanol y xilitol (Olivares Merino, 2021).

El bioetanol obtenido no tiene la pureza requerida y es concentrado al 95 % (v/v) mediante el proceso de destilación, para luego ser deshidratado por tamices moleculares hasta llegar a una concentración de 99 % (v/v) (Bothast y Schlicher 2005; Kumar y Singh, 2019). La hidrólisis enzimática de los polisacáridos se puede combinar con la etapa de fermentación en un proceso llamado sacarificación y fermentación simultánea (SSF) (Doran-Peterson *et al.*, 2009).

**Figura 7.** Proceso de obtención de bioetanol de primera generación y segunda generación a partir de la fracción amilácea del grano de maíz y de la fracción lignocelulósica (tallos, hojas, chalas) de la planta de maíz respectivamente.



Adaptado de Elander y Putsche 1996; Bothast y Schlicher 2005; Niphadkar *et al.*, 2018; Kumar y Singh, 2019.

#### **4.3. Características de calidad del sustrato y su relación con el rendimiento de bioetanol**

La pérdida promedio en el rendimiento de etanol de primera generación debido a las variaciones en la calidad del grano oscila entre 3 y 23 % y estas variaciones podrían deberse al germoplasma empleado y a los efectos ambientales (Singh, 2012).

Actualmente se conoce que la concentración de almidón presenta una relación directa y lineal con el rendimiento de etanol, tanto en maíz como en otros cereales, debido a que la hidrólisis de este polisacárido es la fuente principal de obtención de los monómeros fermentables (Lacerenza *et al.*, 2008; Almodares y Hadi, 2009). Sin embargo, se ha reportado que en híbridos de maíz dentado amarillo con contenidos de almidón entre 68 y 72 %, la disponibilidad de almidón, definida como la fracción que se convierte en bioetanol, variaba significativamente entre híbridos. Dien *et al.* (2002) postularon que la interacción química entre almidón y proteína de la matriz del endospermo sería el rasgo que podría estar afectando la disponibilidad del almidón. Gerde *et al.* (2017) informaron que los granos con endospermas más harinosos o suaves presentaban menor concentración de proteína y se asociaban a mayores rendimientos de etanol. A su vez, se afirma que a nivel industrial el grado de dureza del endospermo afecta los requerimientos de potencia de la molienda seca, la procesabilidad y el rendimiento de los productos molidos y finales (Paulsen *et al.*, 2019), por lo que también interferiría en el rendimiento de bioetanol.

Aún no se han reportado trabajos que aborden de forma integral como las características químicas y físicas de los granos pueden influir sobre el rendimiento de etanol por tonelada de grano. La identificación de QTLs (*Quantitative Trait Loci*) asociados a los contenidos de almidón, proteína y aceite en intervalos cromosómicos idénticos, sugiere la existencia de asociaciones genéticas entre aquellas características. Por ejemplo, a partir de una población de mapeo formada por 498 RILs (*Recombinant Inbred Lines*) de maíz derivadas de un cruzamiento biparental (Zhang *et al.*, 2015), se hallaron para el contenido de aceite, almidón y proteína la presencia de QTLs pleiotrópicos o con una estrecha vinculación entre ellos, que pueden ser de importancia para futuros estudios en el mejoramiento de la calidad del grano.

Con respecto a los biocombustibles de segunda generación, la eficiencia del proceso de obtención de bioetanol está determinada por la liberación de monómeros fermentables y su convertibilidad a bioetanol. Esa eficiencia se encuentra estrechamente influenciada por el

contenido de lignina y la composición de la pared celular de las materias primas lignocelulósicas empleadas como sustrato (Naik *et al.*, 2010).

La biomasa lignocelulósica, como el rastrojo de maíz, ofrece ventajas para la producción de biocombustibles por su bajo costo, elevada disponibilidad y no tener aplicación directa en alimentación humana (Kumar y Singh, 2019). El 50 % de la planta de maíz es considerado residuo agrícola y por tal motivo despertó el interés de emplear el rastrojo como materia prima en la industria de biocombustibles.

Actualmente se conoce que la convertibilidad de esta materia prima en bioetanol está fuertemente asociada con los parámetros de calidad del forraje extensamente estudiados para la alimentación animal (Lorenz *et al.*, 2009-a, Mc Donalds *et al.*, 1999) como por ejemplo el contenido de FDN, FDA, la digestibilidad ruminal *in vitro* de la fibra (DIVF), la digestibilidad de FDN (DFDN) y el contenido de lignina.

Por lo tanto, la calidad de la biomasa es un determinante fundamental en la economía de las biorefinerías (Naik *et al.*, 2010) y podría considerarse un carácter a considerar en la selección y desarrollo de cultivares destinados a la industria de biocombustibles lignocelulósicos. Asimismo, la composición química del rastrojo puede ser mejorada en los cultivos debido a que el rendimiento de bioetanol de segunda generación presenta una asociación lineal con ciertos parámetros de calidad de forraje para los cuales existe comprobada variabilidad genética (Lorenz *et al.*, 2009-b).

## **5. Importancia del diseño de un ideotipo de maíz para la producción de bioetanol**

El mundo se encuentra ante la necesidad apremiante de abordar una "transición energética", lo cual significa un cambio de paradigma de la política energética actual y el desarrollo de nuevos sistemas sostenibles, respetuosos con el medio ambiente y económicamente viables, mediante el remplazo gradual de combustibles fósiles (Abas *et al.*, 2015). A través del mejoramiento genético podrían lograrse materias primas especialmente aptas para la industria de biocombustibles que garanticen altos rendimientos y menores costos de producción, siendo uno de los ejes centrales en la optimización de los procesos industriales que se llevan a cabo. Para ello es necesaria la identificación de un ideotipo de maíz que defina cuáles deberían ser los caracteres de mayor interés desde el punto de vista de la selección en un programa de mejoramiento genético orientado al desarrollo de cultivares especialmente destinados a la producción de biocombustibles.

El termino ideotipo hace referencia a un modelo de planta ideal basado en características morfológicas, fisiológicas, agronómicas, productivas, entre otras, que incrementarían el carácter o los caracteres que se quiera mejorar en un ambiente definido (Donald, 1968; Rasmusson, 1987). La definición de un ideotipo requiere de la determinación de los caracteres a estudiar, la caracterización de los ambientes, la evaluación de la interacción del genotipo con el ambiente y la estimación de los efectos genéticos de las características estudiadas y sus interrelaciones (Trethowan, 2014).

La importancia de definir un ideotipo de maíz para la producción de bioetanol radica en que en la actualidad no se tienen cultivares específicos para la producción de biocombustibles. Los granos de maíz empleados como materia prima en la industria de biocombustibles líquidos son obtenidos a partir de cultivares híbridos que han sido seleccionados por su alto rendimiento y tolerancia a factores de estrés. Situación similar ocurre en la industria de biocombustibles de segunda generación donde el material vegetal empleado se selecciona en función de la disponibilidad y el bajo costo.

El diseño de un ideotipo de maíz para producción de bioetanol permitirá sentar las bases para el desarrollo de germoplasma, establecer cuáles son los caracteres de interés primario y las estrategias de selección más eficientes para lograr híbridos con mayor producción de bioetanol y estabilidad.

La meta principal del trabajo publicado en esta Tesis es avanzar sobre el conocimiento de las relaciones fenotípicas y genotípicas entre las características químicas y física de los granos y, químicas de la biomasa y agronómicas, del tipo de herencia involucrado en dichos caracteres y la capacidad combinatoria entre líneas elites del programa de mejoramiento de INTA Pergamino con el objetivo de sentar las bases para la consolidación de un programa de mejoramiento genético específico de maíz para la producción de bioetanol.

# **HIPÓTESIS**

## Hipótesis

Las hipótesis que sustentan este trabajo de Tesis son:

- El estudio de las características químicas y físicas de grano y de biomasa permitirá identificar los caracteres adecuados para la selección de genotipos con destino de producción de bioetanol de primera y segunda generación.
- Es factible compatibilizar la obtención de genotipos con alto rendimiento de etanol de primera generación y alto rendimiento de grano, y genotipos con alto rendimiento de etanol de segunda generación y alto rendimiento de biomasa.
- Dada la variabilidad genotípica de las líneas endocriadas seleccionadas del programa de mejoramiento de maíz de INTA es factible la implementación de un programa de mejoramiento enfocado en la producción de bioetanol.
- El estudio de los efectos genéticos aditivos y no aditivos que dominan los caracteres asociados al rendimiento de etanol y producción de etanol permitirá identificar las estrategias más apropiadas para el desarrollo de un programa de mejoramiento genético de maíz específico para la producción de bioetanol.

## **OBJETIVO GENERAL**



### **Objetivo General**

En este trabajo se propone estudiar las diferencias fenotípicas y bases genéticas de germoplasma de maíz del programa de mejoramiento de INTA para evaluar la factibilidad de la implementación de un programa de mejoramiento específico para producción de bioetanol.

## **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

**Objetivos específicos**

- Evaluar el rendimiento de etanol a partir de grano y de biomasa de una selección de híbridos del programa de mejoramiento de maíz de INTA en cinco ambientes del Noroeste de la provincia de Buenos Aires y estudiar su relación con las características de calidad química y física de los granos, calidad química de la biomasa y características agronómicas y productivas.
- Evaluar las relaciones existentes entre el rendimiento de etanol y caracteres de calidad y agronómico-productivos mediante las matrices de correlación fenotípica y de sus componentes causales, estimados a partir de la información proveniente de los híbridos.
- Describir características funcionales del almidón por sus propiedades térmicas y relacionarlas con el rendimiento de etanol a partir de grano y la concentración de almidón en híbridos de maíz del programa de mejoramiento de INTA – EEA Pergamino.
- Estimar los efectos de aptitud combinatoria general y específica a través de ambientes de las líneas seleccionadas e identificar los cruzamientos con mayor rendimiento de etanol de primera y segunda generación y rendimiento de grano y biomasa.

# **MATERIALES Y MÉTODOS GENERALES**

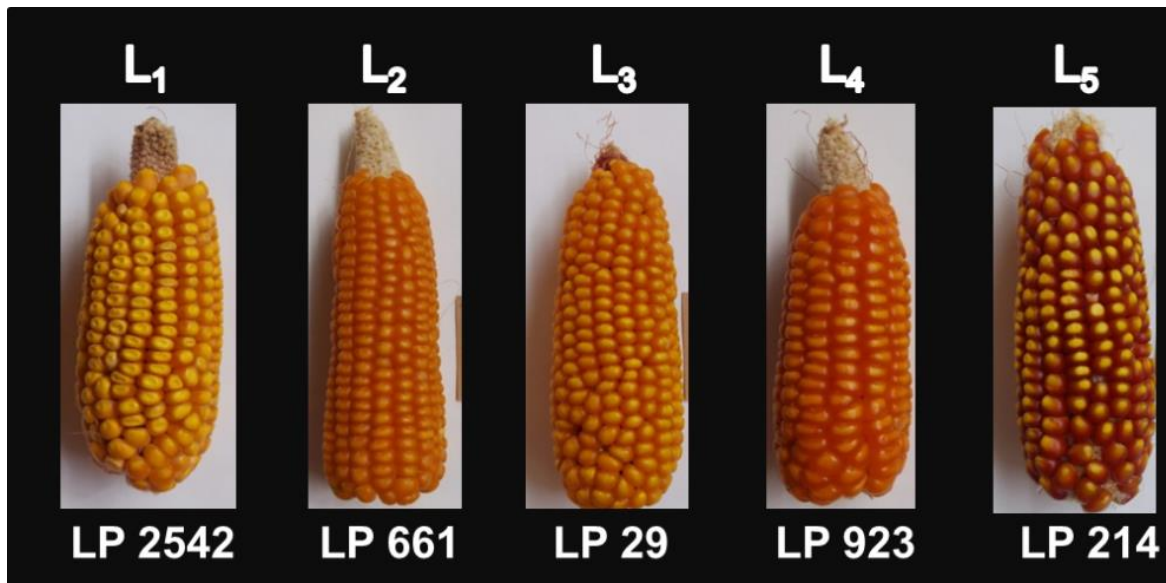
## 1. Genotipos evaluados

### 1.1. Líneas endocriadas

Las líneas evaluadas fueron LP2542 (L<sub>1</sub>), LP661 (L<sub>2</sub>), LP29 (L<sub>3</sub>), LP923 (L<sub>4</sub>) y LP214 (L<sub>5</sub>). Estas líneas poseen diferentes fondos genéticos y pertenecen a distintos grupos heteróticos. Presentan diferencias fenotípicas en cuanto a su tipo de grano y ciclo vegetativo. Las líneas L<sub>2</sub>, L<sub>3</sub>, L<sub>4</sub> y L<sub>5</sub> poseen granos con apariencia variable de tipo *flint*, a diferencia de la línea L<sub>1</sub> cuyo su grano es de tipo *semi-flint* (semiduro). De acuerdo con la escala de uso interno del programa de mejoramiento de INTA, que contempla el tiempo térmico (grados días °Cd) desde la siembra a madurez, las líneas L<sub>1</sub> y L<sub>2</sub> son de ciclo semi-tardío (1684 -1809 °Cd), la línea L<sub>3</sub> es de ciclo precoz (1306 - 1431 °Cd), la línea L<sub>4</sub> y L<sub>5</sub> son de ciclo intermedio (1558 – 1683 °Cd).

Las diferencias fenotípicas de la espiga en cuanto a morfología y color del grano pueden observarse en la Figura 8 que corresponde a fotografías de espigas provenientes de polinizaciones controladas tomadas en la campaña 2015-2016.

**Figura 8.** Variabilidad fenotípica de las líneas endocriadas empleadas como parentales.



Estas líneas fueron caracterizadas previamente con 50 SSRs (*simple sequence repeats* - repeticiones de secuencia simple) a fin de estimar la estructura genética de un panel de líneas más amplio mediante el programa *Structure* 2.3.3 (Pritchard *et al.*, 2000). El análisis realizado por Olmos *et al.* (2014) agrupó a las líneas en *clusters* distintivos a lo largo de los

sucesivos ciclos de simulación de agrupamientos, lo cual reflejó razonablemente a nivel molecular tanto la diferenciación fenotípica como la genealogía de las líneas (Tabla 2).

**Tabla 2** Información de las líneas endocriadas utilizadas como parentales en el diseño dialélico y evaluadas en los experimentos con sus respectivos códigos de identificación.

| Líneas endocriadas empleadas como parentales |        |                                                          |                                 |                        |
|----------------------------------------------|--------|----------------------------------------------------------|---------------------------------|------------------------|
| ID                                           | Línea  | Origen                                                   | Fondo genético determinado por: |                        |
|                                              |        |                                                          | Pedigree                        | Marcadores moleculares |
| L <sub>1</sub>                               | LP2542 | Sintética BS13P                                          | Fam BS13                        | BS13 – BSSS            |
| L <sub>2</sub>                               | LP661  | (LP662 x LP611) F <sub>2</sub>                           | P465                            | P465                   |
| L <sub>3</sub>                               | LP29   | Compuesto Colorado Precoz                                | Fam CCP                         | Mixto                  |
| L <sub>4</sub>                               | LP923  | Híbrido 2F10F <sub>2</sub>                               |                                 | Mixto                  |
| L <sub>5</sub>                               | LP214  | Cruzamiento (Local Flint x Canadian Dent) F <sub>2</sub> | Fam Can<br>Arg                  | Mixto                  |

La sintética BS13P fue generada por selección recurrente sobre la población *Stiff Stalk Synthetic*, de *Iowa State University*. Fue introducida en el programa de mejoramiento de maíz del INTA en 1989 y derivada de un ciclo de selección recurrente de medios hermanos empleando como probadoras a líneas de tipo *flint* (LP662, LP612). La LP661 es una línea de tercer ciclo de mejoramiento de la línea P465. Su progenitor LP662 fue obtenido mediante autofecundación de un antiguo híbrido simple comercial (Asgrow Ax252), cuyo progenitor masculino era P465. El otro progenitor de LP661 fue la línea LP611, derivada de un programa de selección recurrente por tolerancia a roya común (*Puccinia sorghi*) y textura dura o *flint* en una población resultante del cruzamiento entre P465 y diversas fuentes de tolerancia a roya de origen estadounidense, mediante autofecundaciones y sucesivas pruebas de habilidad combinatoria. La LP29 resultó de endocriar una familia selecta de un programa de selección recurrente en la población Compuesto Colorado Precoz. La LP923 se originó por autofecundación y pruebas de habilidad combinatoria sobre una generación avanzada del híbrido simple comercial Dekalb 2F10. La LP214 se obtuvo por endocría y selección por pruebas de habilidad combinatoria en una sintética formada por híbridos comerciales de origen local, en su mayoría de tipo *flint*, cruzado por líneas de un programa de mejoramiento canadiense.

## 1.2. Híbridos

Los híbridos evaluados se clasificaron según su procedencia en híbridos experimentales e híbridos comerciales. Los híbridos experimentales incluyen a los materiales desarrollados por INTA-EEAP y consiste en un conjunto de diez híbridos simples  $F_1$  producto del cruzamiento dialélico de las líneas ya mencionadas: LP29 x LP661, LP29 x LP2542, LP923 x LP29, LP214 x LP29, LP214 x LP661, LP214 x LP2542, LP214 x LP923, LP214 x LP661, LP923 x LP2542, LP661 x LP2542; y un híbrido actualmente inscripto por INTA especialmente desarrollado por su alto contenido de ácido oleico (Tesai AO INTA).

El conjunto de híbridos comerciales comprendió siete híbridos correspondientes a la empresa ACA – Asociación de Cooperativas Argentina (470 VT3Pro, 496 MG, 493 MGRR2, 498 MGRR2, 480RR2, 473 MGRR2, 480 MG) y siete híbridos correspondientes a la empresa DOW AgroScience, actual Corteva, (512 PW, 510 PW, 505 PW, 507 PW, 575 PW, BMR 126 HX, 2A120 PW). Los híbridos ensayados fueron elegidos por las empresas de acuerdo a criterios comerciales propios y teniendo en cuenta los objetivos de este estudio.

El conjunto de híbridos comerciales incluyó un híbrido desarrollado para ensilaje, BMR 126 HX, que contiene el gen *brm* mutado (nervadura marrón / brown midrib (*brm*<sup>-</sup>)). El alelo recesivo altera la vía de biosíntesis de lignina, lo que conduce a un maíz con menor contenido de lignina y consecuentemente a una mayor digestibilidad (Piquemal *et al.*, 2002; He *et al.*, 2003; Torney *et al.*, 2007).

En la Tabla 3 se detallan los códigos de identificación empleados para todos los híbridos estudiados. Estos primeros 10 híbridos en el capítulo III son mencionados como  $H_{ij}$ , haciendo referencia a la cruce formada por las líneas progenitoras  $L_i$  y  $L_j$  (Tabla 2).

**Tabla 3.** Código de identificación (ID) de los híbridos experimentales y comerciales evaluados en los 5 ambientes de la zona núcleo de la provincia de Buenos Aires.

| ID | Híbrido        | ID | Híbrido        | ID | Híbrido       |
|----|----------------|----|----------------|----|---------------|
| 1  | LP29 x LP661   | 10 | LP661 x LP2542 | 19 | 510 PW        |
| 2  | LP29 x LP2542  | 11 | 470 VT3 Pro    | 20 | 505 PW        |
| 3  | LP923 x LP29   | 12 | 496 MG         | 21 | 507 PW        |
| 4  | LP214 x LP29   | 13 | 493 MGRR2      | 22 | 575 PW        |
| 5  | LP214 x LP661  | 14 | 498 MG RR2     | 23 | MBR 126 HX    |
| 6  | LP214 x LP2542 | 15 | 480 RR2        | 24 | 2A 120 PW     |
| 7  | LP214 x LP923  | 16 | 473 MG RR2     | 25 | Tesai AO INTA |
| 8  | LP214 x LP661  | 17 | 480 MG         | -  | -             |
| 9  | LP923 x LP2542 | 18 | 512 PW         | -  | -             |

## 2. Ambientes de evaluación

Los ambientes correspondieron geográficamente a la zona núcleo del norte de la provincia de Buenos Aires durante dos campañas agrícolas sucesivas. En la campaña 2015 - 16 se implantaron experimentos en un suelo argiudol típico serie Rojas, ubicado en el campo experimental de DOW Agrosiences (actual Corteva) situado en la localidad de Colón (33° 58' 7" S; 60° 57' 23" O), en un suelo hapludol típico serie Junín en el campo experimental "Las Magnolias" de la UNNOBA (34° 27' 19" S; 60° 52' 35" O) y en un suelo argiudol típico serie Pergamino en INTA EEA Pergamino (33° 56' 26" S; 60° 33' 29" O). En la campaña 2016-17 los experimentos se implantaron en Junín y Pergamino en los mismos centros de investigación y sobre las mismas series de suelos. La identificación del tipo de suelo se realizó de acuerdo con la carta de suelos de la provincia de Buenos Aires publicada por INTA (disponible en <http://anterior.inta.gov.ar/suelos/cartas/index.htm>).

En ambas campañas las mayores precipitaciones se observaron en la localidad de Pergamino, seguida por Junín 2015-16. Las temperaturas promedio durante el ciclo productivo oscilaron entre 20 y 22 °C (Tabla 4). La información meteorológica expuesta en este trabajo fue tomada por el sistema de información y gestión meteorológica de INTA y está disponible en <http://siga2.inta.gov.ar/#/>.



**Tabla 4.** Descripción de los ambientes de evaluación en términos de temperatura promedio y precipitaciones desde siembra hasta cosecha de los experimentos.

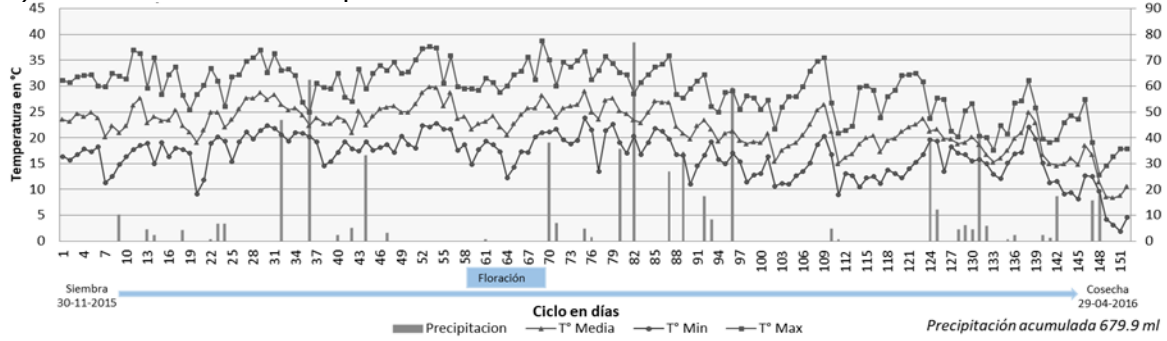
| <b>Ambiente</b> | <b>Localidad</b> | <b>Año</b> | <b>Tm (°C)</b> | <b>PP (mm)</b> | <b>Siembra</b> | <b>Cosecha</b> |
|-----------------|------------------|------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| <b>1</b>        | Colón            | 2015 – 16  | 22,16          | 679,6          | 30/11/2015     | 29/04/2016     |
| <b>2</b>        | Junín            | 2015 – 16  | 21,38          | 705,7          | 23/10/2015     | 13/04/2016     |
| <b>3</b>        | Pergamino        | 2015 – 16  | 21,16          | 780,7          | 08/10/2015     | 11/04/2017     |
| <b>4</b>        | Junín            | 2016 – 17  | 22,04          | 643,3          | 03/11/2016     | 06/04/2017     |
| <b>5</b>        | Pergamino        | 2016 – 17  | 20,58          | 817,3          | 28/09/2016     | 28/03/2017     |

Tm: Temperatura media promedio; PP: precipitaciones acumuladas desde la fecha de siembra hasta la fecha de cosecha; Siembra: fechas de siembra; Cosecha: fecha de cosecha

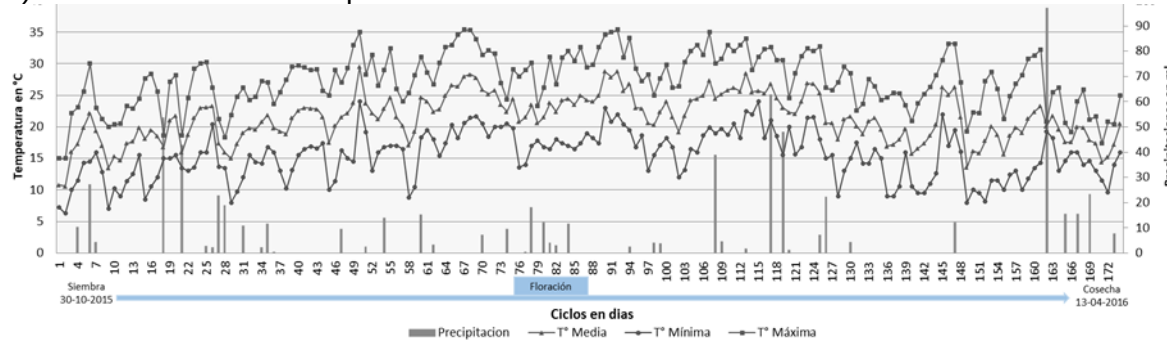
En los diagramas climáticos (Figuras 9 y 10) se presenta con mayor detalle las condiciones climáticas que afrontó cada experimento en su respectivo ambiente resaltándose con una barra en celeste el periodo de floración. Se puede observar que en la localidad de Colón en el año 2015-16 las precipitaciones fueron casi nulas en el periodo de floración, a diferencia de Pergamino 2015-16 donde se presentaron precipitaciones abundantes.

**Figura 9.** Condiciones climáticas (precipitaciones y temperatura mínima, máxima y media) a través de diagramas climáticos que afrontó cada experimento en su respectivo ambiente durante el ciclo productivo y el periodo de floración en la campaña 2015-16.

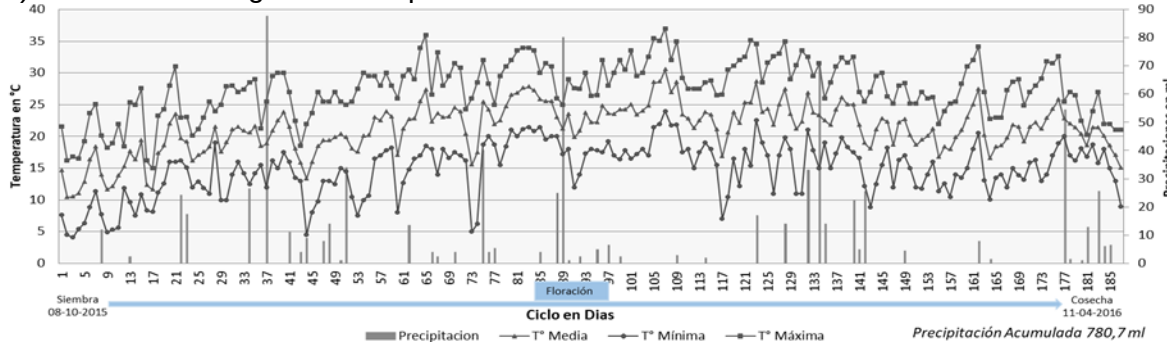
a) Ambiente1: Colón Campaña 2015-16



b) Ambiente 2: Junín Campaña 2015-16

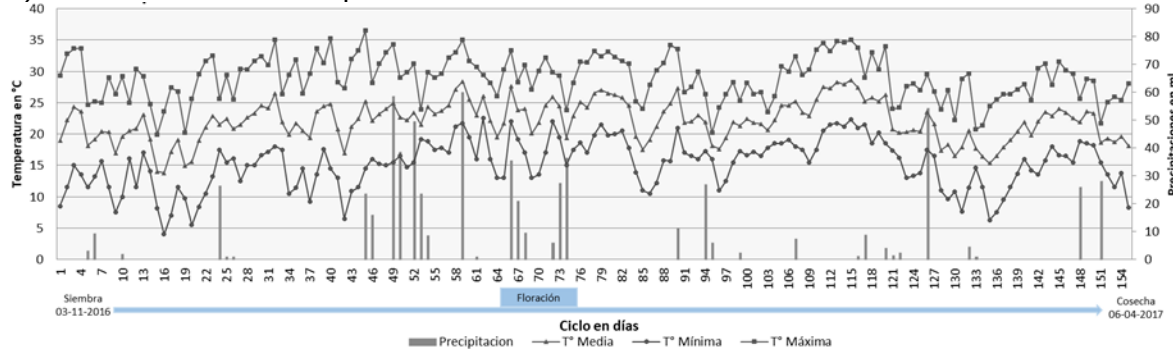


c) Ambiente 3: Pergamino campaña 2015-16

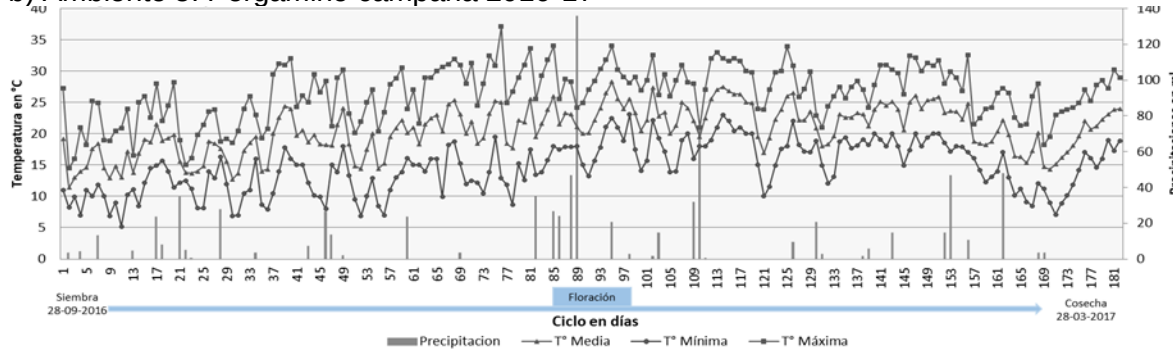


**Figura 10.** Condiciones climáticas (precipitaciones y temperatura mínima, máxima y media) a través de diagramas climáticos que afrontó cada experimento en su respectivo ambiente durante el ciclo productivo y el periodo de floración en la campaña 2016-17.

a) Ambiente 4: Junín campaña 2016-17



b) Ambiente 5: Pergamino campaña 2016-17



### 3. Diseño Experimental

Los experimentos siguieron un diseño de bloques completos aleatorizados (DBCA) con dos repeticiones y aleatorizaciones independientes para híbridos y líneas endocriadas. Se llevaron a cabo en los cinco ambientes del norte de la provincia de Buenos Aires descriptos en la sección anterior.

La configuración de cada parcela fue de cuatro surcos de 5 m de largo, distantes a 0,7 m entre sí, a excepción de Colón que fue de 0,5 m. Se sembraron 30 semillas por surco, no siendo necesario efectuar raleos, y el manejo agronómico del cultivo fue el de adopción generalizada en la región. La densidad del cultivo fue de 100.000 planta/hectárea en Colón 2015-16 y 71.148 planta/hectárea para el resto de los ambientes.

El primer surco de cada parcela se destinó a la obtención de muestras para la evaluación de caracteres asociados a la calidad química de grano (determinaciones químicas de calidad de grano, DQCG) y a la calidad en cuanto a las propiedades físicas de los granos (determinaciones físicas de calidad de grano, DF CG). Las muestras de grano se obtuvieron

mediante polinizaciones controladas (cruzamientos planta a planta o cruzamientos fraternales dentro de cada surco) para evitar efectos de xenia. Se polinizaron entre 15 y 20 plantas para obtener la cantidad de semilla requerida por las determinaciones analíticas. La cosecha se realizó manualmente luego de alcanzada la madurez fisiológica, reteniendo de todas las polinizaciones efectuadas sólo las espigas con granazón completa y sanas. Éstas se trillaron manualmente y los granos se limpiaron hasta eliminar materiales extraños o dañados.

El segundo y tercer surco de cada parcela se destinaron a la estimación del rendimiento de grano y caracteres asociados, es decir a mediciones de características agronómicas y productivas (CAYP). Estas espigas fueron de polinización libre, se cosecharon manualmente en madurez fisiológica y el material fue trillado con una desgranadora eléctrica.

El cuarto surco de cada unidad experimental se destinó a la obtención de muestras de planta entera y posterior submuestreo para las determinaciones químicas de calidad de biomasa (DQCB). La cosecha se realizó por corte a machete a una altura entre 0,10 y 0,15 m del suelo, en madurez fisiológica, a razón de 10 plantas por surco en competencia completa (Sayre *et al.*, 2012). El secado del material se realizó, simulando una estufa con ventilación forzada, en un invernáculo hasta peso constante a una temperatura promedio de 60 °C y posteriormente se determinó su humedad remanente (8,30 %).

#### **4. Caracteres evaluados**

##### **4.1. Determinaciones químicas de la calidad de grano (DQCG)**

Los análisis se llevaron a cabo en el Laboratorio de Calidad de Alimentos, Suelos y Agua (LCASyA) de INTA EEA Pergamino. Se emplearon granos provenientes de polinizaciones controladas realizadas en el primer surco de cada unidad experimental. Las muestras destinadas a los análisis de química húmeda fueron molidas al momento de realizar su determinación, utilizando un molino a cuchillas planas refrigerado HQ Analyzer MC-II hasta lograr un tamaño de partícula inferior a 1 mm. Todas las determinaciones fueron referidas a base seca (b.s.) y para ello se determinó la humedad de cada muestra según el método de referencia AACC, 44-16, 1995.

Para evaluar la calidad química de grano se realizaron las siguientes determinaciones:

Concentración de almidón (CAL, g.100.g<sup>-1</sup>): Se empleó el método polarimétrico (Norma IRAM 15859:2014) excepto en el caso de las muestras de los híbridos comerciales en la campaña 2016-17 que se determinaron por NIRS (*Near Infrared Spectroscopy*) calibrado por el método químico anteriormente mencionado (Tabla 5).

El método polarimétrico permite medir la concentración de almidón mediante el cambio que sufre el plano de luz polarizada cuando atraviesa un medio transparente formado por sustancias ópticamente activas (Olsen, 1990). Para ello inicialmente se fraccionó la muestra en dos porciones. En la primera se determinó el poder rotatorio total y en la segunda el poder rotatorio de las sustancias activas solubles en agua que previamente se le extrajeron a la muestra (carbohidratos solubles en agua). En ambos casos se efectuó una hidrólisis con ácido clorhídrico, una posterior precipitación de proteínas con ácido fosfowolfrámico y finalmente se las sometieron a un proceso de filtración.

Los poderes rotatorios de los filtrados se obtuvieron mediante un equipo polarímetro ATAGO, modelo AP 300. La concentración de almidón, en gramos por 100 gramos de muestra, se calculó como:

$$CAL(g.100.g^{-1}) = \frac{(P - P')}{(l \times [\alpha_{20^{\circ}C}^D] \times m)} \times 100$$

Siendo *CAL*: la concentración de almidón en gramos en cien gramos de maíz; *P* y *P'* el poder rotatorio total de la solución y de las sustancias activas solubles en agua, respectivamente, en grados sexagesimales; *l*: el largo del tubo del polarímetro, en decímetros; *m*: la masa de la muestra, en gramos;  $[\alpha_{20^{\circ}C}^D]$ : 184,6 grados sexagesimales que corresponde a la rotación específica del almidón de maíz a 20 °C y  $\lambda=589$  nm (IRAM 15859:2014).

Concentración de Amilosa (CAM, g.100.g<sup>-1</sup>): Se determinó con el método de Knutson (1986) descripto por Robutti *et al.* (2000) en los materiales desarrollados por INTA EEA Pergamino, que. Cada muestra molida se pesó y se solubilizó en una solución de dimetilsulfóxido 90 % (DMSO) y que contiene yodo (I<sub>2</sub>) en concentración 6.10<sup>-3</sup> M., en la cual se incubó 48 horas a 70 °C. La CAM no fue determinada para el ensayo implantado en la localidad de Colón.

Posteriormente se enrasó a volumen final de 10 ml y por ultimo se llevó a cabo la reacción colorimétrica mediante una dilución produciendo una disminución de la afinidad entre I<sub>2</sub>-

DMSO donde se forma espontáneamente  $I_3^-$ , ion necesario para la iniciación de la formación del complejo amilosa-iodo.

La metodología se basa en una reacción colorimétrica entre la amilosa y el yodo ( $I_3^-$ ), dando un color azul intenso debido a la capacidad del halógeno de ocupar una posición en el interior de la espiral helicoidal de las unidades de glucosa que forman la amilosa en suspensión acuosa (Knutson, 1986). La cuantificación de este complejo se realizó por espectrofotometría midiendo la absorbancia a 600 nm en un equipo Spectronic 20D+. La concentración de amilosa se determinó empleando una curva de calibración realizada con un maíz patrón del LCASyA.

Concentración de Proteína (PRT, g.100.g<sup>-1</sup>): se determinó mediante NIRS, metodología calibrada (Tabla 5) a partir del método de Kjeldahl (AOCS, 1998).

Concentración de Aceite (CA, g.100.g<sup>-1</sup>): se determinó mediante resonancia magnética nuclear resuelta en tiempo real, H1RMN-RT (Guillén y Ruiz, 2001), en un equipo Oxford MQ5 calibrado según el método de extracción por solvente (AACC Method 30-25, 1995)

Se escanearon muestras de grano entero con un porcentaje de humedad menor al 10 %, para ello fueron previamente mantenidas en estufa durante 72 horas a 38 °C.

Perfil de ácidos grasos (g.100.g<sup>-1</sup>): Se determinó mediante cromatografía gaseosa descrita por Percibaldi *et al.* (1997) en todos los materiales evaluados.

En todas las separaciones cromatográficas la muestra se desplaza acarreada con una fase móvil, que en este caso fue un gas. Esta fase móvil se hace pasar a través de una fase estacionaria con la que es inmisible y que se fija a una columna. Aquellos componentes que son fuertemente retenidos por la fase estacionaria presentan menor movilidad que los componentes que se unen débilmente y que se movilizan con mayor rapidez. Como consecuencia de las distintas movilidades, los componentes de la muestra se separan en bandas o zonas discretas que pueden analizarse cualitativa y/o cuantitativamente (Skoog *et al.*, 2001) El tiempo de retención de los ácidos grasos es directamente proporcional con el largo de la cadena y el número de enlaces insaturados.

Como la composición ácida del aceite varía según la posición del grano en la espiga de maíz (Jellum, 1970), se tomaron 10 granos ubicados en la porción media de cada espiga y se conformó una muestra representativa compuesta por alrededor de 120 y 160 granos.

En primera instancia se procedió a la extracción del aceite con hexano de calidad cromatográfica a partir de 10 gérmenes de maíz de cada muestreo ( $0,20 \pm 0,05$  g) y la esterificación se realizó mediante transesterificación directa *in situ* con catálisis alcalina.

Se utilizó un cromatógrafo gaseoso Perkin Elmer Clarus 500, equipado con una columna capilar Elite-225 Perkin Elmer (longitud: 30 m; diámetro interno: 0,32 mm; espesor de película: 0,25  $\mu$ m, temperatura límite: 40-220/240 °C), con un sistema automuestreador y un sistema purificador de gases controlado bajo el programa *Totalchrom Workstation version 6.3.1*.

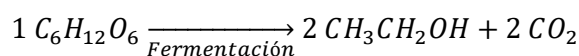
Los parámetros utilizados para la determinación cromatográfica fueron: temperatura de horno programada con rampa de 3 °C.min<sup>-1</sup> desde 190 °C hasta 240 °C mantenido durante un minuto, temperatura del inyector de 240 °C y temperatura del detector de 300 °C. La velocidad del gas portador fue 20 cm/segundo y el volumen de inyección fue de 1,0  $\mu$ l con un tiempo de corrida de 16,67 minutos.

Mediante pruebas con patrones de ácidos grasos se identificó cada pico del cromatograma según los tiempos de retención característicos de cada uno. El área bajo la curva se interpretó como la concentración total de los ácidos grasos y el área del pico característico como el porcentaje relativo al total de ácidos grasos. El perfil de ácidos grasos determinado por esta metodología incluyó la concentración de ácido palmítico (AP), ácido esteárico (AE), ácido oleico (AO), ácido linoleico (ALI) y ácido linolénico (ALN), todos expresados en g.100.g<sup>-1</sup>.

Rendimiento de etanol a partir de grano por NIRS (REGN, l.Mg<sup>-1</sup>): metodología calibrada (Tabla 5) mediante un proceso de fermentación estandarizado según Alegre *et al.* (2014). Este procedimiento consiste en una digestión enzimática y posterior fermentación. La primera etapa de digestión enzimática está dada por un proceso de licuefacción donde los polisacáridos se convierten en dextrinas. Para ello se emplea una  $\alpha$  – *amilasa* obtenida a partir de una cepa de *Bacillus licheniformis*, 17329 LU/g (Spezyme® SRL, Dupont) la cual se incubó por 2 horas a 90 °C. La segunda etapa comprende una reacción de sacarificación donde ocurre la transformación cuantitativa de los fragmentos producidos por la acción de la  $\alpha$  – *amilasa* en *D* – *glucosa* para la cual se emplea una  $\beta$  – *glucosidasa* obtenida de *Aspergillus niger*, 375 GAU/g (Distillase® SSF, Dupont) incubándose por 2 horas a 60 °C.

En la etapa de fermentación se inocula el medio con una cepa comercial de *Saccharomyces cerevisiae*, conservada mediante liofilización, a 30 °C por 72 horas. El medio líquido de cultivo consiste en extracto de levadura 0,3 %; peptona de carne 0,35 %;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0,2 %;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0,1 %;  $(\text{NH}_2)_2\text{SO}_4$  0,1 %; pH 5,5. En este proceso los azúcares simples fermentables obtenidos en la sacarificación ( $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ ) se transforman en etanol ( $\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$ ) y dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ).

El rendimiento de etanol a partir de grano se calcula en base a la pérdida de peso que ocurre durante la fermentación y la misma corresponde a la cantidad de  $\text{CO}_2$  eliminado. En base a cálculos estequiométricos de la siguiente ecuación es posible estimar la cantidad de etanol producido (Lémuz, *et al.*, 2009)



Para las variables determinadas por NIRS (CAL, CP, REGN) las muestras fueron escaneadas en un equipo Perkin Elmer (Modelo Spectrum One) por transformación de Fourier (FT\_NIRS). Se escanearon todas las muestras molidas (descriptas previamente) colectándose sus espectros de reflectancia entre 10.000 y 4.000  $\text{cm}^{-1}$ . Las calibraciones fueron desarrolladas en el LCASyA de INTA EEA Pergamino a partir de los espectros y las determinaciones por química húmeda, utilizando análisis multivariados para la obtención de ecuaciones de calibración/predicción con *software* (Spectrum QUANT+ v 4.51) específico del instrumental. Las ecuaciones se seleccionaron en base a la mayor variabilidad explicada para el set de calibración y de acuerdo al menor error estándar de predicción. En la Tabla 5 se presenta un resumen de los resultados de las calibraciones (Di Martino *et al.*, 2018).

**Tabla 5.** Calibraciones NIRS para el rendimiento de etanol a partir de grano, concentración de proteína y almidón

| Estadísticas de la calibración | Rendimiento de etanol ( $\text{l.Mg}^{-1}$ ) | Concentración de Proteína ( $\text{g.100.g}^{-1}$ ) | Concentración de Almidón ( $\text{g.100.g}^{-1}$ ) |
|--------------------------------|----------------------------------------------|-----------------------------------------------------|----------------------------------------------------|
| N° de muestras                 | 1201                                         | 1440                                                | 753                                                |
| Media                          | 471,2                                        | 10,75                                               | 70,55                                              |
| Rango                          | 410,8 - 515,6                                | 6,8 – 15,8                                          | 61,1 - 76,7                                        |
| Desvío Estándar (D.E)          | 13,7                                         | 1,6                                                 | 2,4                                                |
| Varianza explicada             | 72,6 %                                       | 87,9 %                                              | 53,2 %                                             |
| D.E. de predicción             | 7,1                                          | 0,5                                                 | 1,7                                                |

Adaptado de Di Martino *et al.*, 2018



#### 4.2. Determinaciones físicas de calidad de los granos (DFCG)

Las características físicas de los granos asociadas a la dureza del endospermo se evaluaron en el LCASyA de INTA EEA Pergamino en todos los genotipos sobre muestras de granos provenientes de polinizaciones controladas como se describió anteriormente.

Las variables investigadas están asociadas a la fuerza requerida para romper el grano y a la resistencia mecánica que este opone. Sin embargo, también pueden ser de utilidad para determinar la capacidad del grano para absorber y retener el agua durante un proceso de cocción. Los maíces denominados de endospermo suave se hidratan más rápidamente que los maíces de endospermo de tipo duro, debido a que en los de tipo suave los gránulos de almidón son alcanzados por el líquido con mayor facilidad (Watson 2003; Salinas y Aguilar, 2010).

Las determinaciones asociadas con la dureza del grano fueron las siguientes:

Peso hectolítrico (PH, kg.hL<sup>-1</sup>): se midió con balanza de 1 litro de tipo Schlopper sobre muestras estabilizadas a su humedad de equilibrio atmosférico. Esta característica es el peso expresado en kilogramos de una cantidad de grano que ocupa un volumen de cien litros. (SAGyP, 1994 - Norma XXVI)

Índice de flotación (IF, %): se realizó según las normas de la Secretaría de Agricultura y Pesca (SAGyP, 1994 - Norma XXVI). Se utilizó una solución de  $NO_3Na$  con un peso específico de 1,25 Kg.l<sup>-1</sup> a 35 °C y se emplearon 100 granos por cada repetición técnica. El índice se calculó como:

$$IF(\%) = \frac{\text{Número de granos flotantes}}{\text{Número de granos sumergidos}} \times 100$$

Densidad de grano (DG, g.mL<sup>-1</sup>): se midió siguiendo el protocolo establecido por Correa *et al.* (2002). Para ellos se llenó un picnómetro de peso conocido con agua destilada y se pesó. Se agregaron aproximadamente 10 g de granos secos en el picnómetro y se agregó agua bidestilada para llenar el volumen interno y se pesó el picnómetro lleno. La densidad (g.mL<sup>-1</sup>) se calculó dividiendo el peso del agua reemplazada por el peso de los granos de maíz, suponiendo una densidad de agua de 1.0 g.mL<sup>-1</sup>.

Relación de molienda (RM) se obtuvo siguiendo el protocolo descripto por Robutti *et al.*, 1995. Se molieron 50 g de grano entero en un molino Stein durante 15 segundos.

Posteriormente se tamizaron con un equipo Rotachoc (Chopin) durante un minuto con un sistema de tamices cuyas mallas fueron de 1 mm y 0.5 mm, por lo que el material queda dividido en 3 fracciones: gruesa, intermedia y fina. La relación de estas fracciones se determinó como:

$$RM = \frac{\text{Peso retenido en el tamiz 1 mm}}{\text{Peso retenido en el tamiz 0,5 mm}}$$

Existen antecedentes de clasificación de granos de maíz en base a los rangos que presentan varias de las características de dureza presentadas (Tabla 6).

**Tabla 6.** Clasificación del grano de maíz por su dureza para índice de flotación (FT), peso hectolítrico (PH), relación de molienda (RM) y densidad del grano (DG).

| Clasificación | IF (%)               | PH (kg.h <sup>l</sup> <sup>-1</sup> ) | PH (kg.h <sup>l</sup> <sup>-1</sup> ) | RM        | DG (ml.g <sup>-1</sup> )                           |
|---------------|----------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|-----------|----------------------------------------------------|
| Muy duro      | 0-12                 | > 75                                  | 80,1 – 81,7                           | 1,8 – 4,1 | Mayor DG,<br>menor<br>disponibilidad<br>de almidón |
| Duro          | 13-37                |                                       |                                       |           |                                                    |
| Intermedio    | 38-62                | 74 – 75                               | 76,2 – 80,1                           | 3,0 – 5,6 |                                                    |
| Suave         | 63-87                | < 74                                  | 74,2 – 77                             | 4,7 – 6,2 |                                                    |
| Muy suave     | 88-100               |                                       |                                       |           |                                                    |
| Referencia    | Palacios Rojas, 2018 |                                       | Eyhérabide <i>et al.</i> , 1996       |           | Correa <i>et al.</i> , 2002                        |

#### 4.3. Propiedades térmicas de almidón (PTA)

Se determinaron mediante calorimetría diferencial de barrido (DSC – *Differential Scanning Calorimetry*). La DSC evalúa el comportamiento térmico de los materiales sometidos a un gradiente de temperatura (Atkins *et al.*, 2006).

Los almidones caracterizados provinieron de los granos de los genotipos desarrollados por INTA EEA Pergamino. Fueron extraídos y purificados formándose un sistema almidón-agua de proporciones 1:2 p/v, metodología desarrollada por White *et al.*, (1990) y modificada por Krieger *et al.*, (1997). Las propiedades térmicas fueron medidas mediante DSC (Calorimetría diferencial de barrido - *Differential Scanning Calorimetry*) utilizando el calorímetro Pyris 6 DSC, Perkin Elmer analizadas por Software Pyris versión 7.0 – 2004, Perkin Elmer.

Las propiedades térmicas del almidón relacionadas al proceso de gelatinización y retrogradación se determinaron según Ji *et al.*, 2004 descriptas en Eyherabide *et al.*, 2007-a.

Las muestras se corrieron en el equipo DSC a una velocidad de calentamiento de  $10\text{ }^{\circ}\text{C}.\text{min}^{-1}$  la cual es ampliamente utilizada para observar transiciones térmicas en alimentos (Gabbott, 2008). Para la gelatinización se empleó el rango de temperaturas de 30 a  $110\text{ }^{\circ}\text{C}$  y las muestras se conservaron a  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante siete días y posteriormente se evaluó la retrogradación empleándose el rango de temperaturas de 15 a  $90\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

En el caso de gelatinización se determinaron las temperaturas de inicio ( $T_{0G}$ ) y de pico ( $T_{PG}$ ), la entalpía, expresada en J/g ( $\Delta H_G$ ), el rango ( $R_G$ ) estimado como el doble de la diferencia de la temperatura de pico e inicial de gelatinización, y el índice de altura de pico ( $PHI_G$ ) como el cociente entre la entalpía de gelatinización y la diferencia entre  $T_{PG}$  y  $T_{0G}$ .

Para retrogradación se determinaron las temperaturas de inicio ( $T_{0R}$ ) y de pico ( $T_{PR}$ ), la entalpía de retrogradación expresada en J/g ( $\Delta H_R$ ), el rango de retrogradación ( $R_R$ ) estimado como el doble de la diferencia de la temperatura de pico e inicial de la retrogradación y el porcentaje de recristalización o retrogradación ( $P_R$ ) como el cociente de la entalpía de retrogradación y la entalpía de gelatinización por cien ( $(\Delta H_R / \Delta H_G) \times 100$ )

#### **4.4. Determinaciones químicas de calidad de biomasa (DQCB)**

El material se fraccionó en sus distintos componentes vegetativos (marlos, tallos + hojas, chalas y granos), pero solo la fracción de (tallos + hojas) se empleó para las determinaciones químicas de calidad de la biomasa debido a que las calibraciones NIRS fueron realizadas sobre esta fracción.

El material vegetal se molió en dos etapas. La primera consistió en pasar el material por una máquina trituradora para disminuir el tamaño de partículas. En la segunda etapa se tomó una submuestra y se llevó el material a una malla de 1 mm en un molino refrigerado.

Se determinó la concentración en 100 g de fibra de detergente ácido (FDA), fibra de detergente neutro (FDN), lignina de detergente ácido (LDA), digestibilidad *in vitro* de la fibra (DIVF) y digestibilidad de la fibra detergente neutro (DFDN).

Estas determinaciones fueron tercerizadas al laboratorio de calidad de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Lomas de Zamora (UNLZ) y se efectuaron mediante NIRS. Para ello emplearon un equipo NIRS (NIRS 6500, NIRSystem Inc, Silver Spring, MD) colectándose espectros infrarrojos entre 1.100 y 2.500 cada 2 nm, calibrado por método enzimático (Gabrielsen, 1986), Tabla 7.

**Tabla 7.** Calibraciones NIRS para las determinaciones químicas de calidad de biomasa.

| <b>Estadísticas de la calibración</b> | <b>FDA</b> | <b>FDN</b> | <b>LDA</b> | <b>DIVF</b> | <b>DFDN</b> |
|---------------------------------------|------------|------------|------------|-------------|-------------|
| Nº de muestras                        | 120        | 119        | 120        | 120         | 117         |
| Media                                 | 33,8       | 60,8       | 4,8        | 57,9        | 38,9        |
| Desvio Estándar (D.E)                 | 2,6        | 3,5        | 0,9        | 7,1         | 5,8         |
| Varianza explicada                    | 92,3 %     | 93,9 %     | 84,4 %     | 86,7 %      | 81,7 %      |
| D.E. de predicción                    | 0,7        | 0,9        | 0,3        | 2,6         | 3,5         |

*Información proporcionada por el laboratorio de calidad de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Lomas de Zamora (UNLZ), Dra. Mónica Aulicino.*

La concentración de hemicelulosa (HE) se obtuvo a partir de la diferencia entre FDN y FDA, y la concentración de celulosa (CE) a partir de la diferencia entre FDA y LDA (Van Soest, 1967).

El rendimiento teórico de etanol a partir de biomasa (REB, en l de etanol.Mg<sup>-1</sup> de materia seca), se determinó según Cardona *et al.* (2012), como:

$$REB (l.Mg^{-1}) = \frac{\frac{HE*1,11*Vxe*MetOH}{Mxil} + \frac{CE*1,11*VGe*MetOH}{MG}}{\rho_{etOH}} * 10000$$

Donde, *HE* y *CE* son la fracción de hemicelulosa y celulosa respectivamente en 100 g de material seco estimada mediante NIRS; 1,11: es la relación entre el peso molecular de la celulosa y la celobiosa; *Vxe* y *VGe* son los factores estequiométricos de la conversión de xilosa y glucosa en etanol respectivamente; *MetOH*, *Mxil*, *MG* son los pesos moleculares del etanol, xilosa y glucosa, respectivamente; 10000: es el factor de conversión de 100 g a Mg, *petOH*: densidad del etanol (g.l<sup>-1</sup>).

#### 4.5. Variables asociadas a características agronómicas y productivas (CAYP)

Se determinó el rendimiento de grano (RG, Mg.ha<sup>-1</sup>) con un 15 % de humedad y peso de mil semillas (PM, g) ajustado a 0 % de humedad (Sayre *et al.*, 2012). A partir de diez espigas tomadas al azar se determinaron los valores promedios de la longitud de la espiga (LES, cm), el diámetro de la espiga (DES, cm) y el número de hileras de la espiga (NH). La unidad de muestreo fue el segundo y tercer surco de cada parcela.

Se registraron los días a floración femenina (DFF, días) como los días que transcurrieron desde la siembra hasta el momento en que el 50 % de las plantas de cada unidad experimental mostraron estigmas expuestos.

Se tomaron los pesos secos de cada fracción vegetativa corregidos a 0 % de humedad y se determinó el peso en Mg de cada fracción por hectárea ( $\text{Mg.ha}^{-1}$ ) considerándose una densidad de 100.000 pl. $\text{ha}^{-1}$  para la localidad de Colón y de 71.148 pl. $\text{ha}^{-1}$  para el resto de los ambientes. Dentro de los pesos secos se estimó el peso seco de (tallos + hojas) (PSTH), de chalas (PSC); marlos (PSM) y granos (PSG). Estas fracciones se tomaron de las 10 plantas cosechadas manualmente correspondientes al cuarto surco de la parcela.

El índice de cosecha (IC) se determinó dividiendo el peso seco de grano por el peso seco total de la planta ( $0 \text{ g.kg}^{-1}$  de agua), según Sayre *et al.* (2012) y Karlen *et al.* (2015).

Se estimó el rendimiento de biomasa vegetativa (RB,  $\text{Mg.ha}^{-1}$ ) como la suma de la fracción tallos + hojas y chalas (sin incluir la fracción grano) teniendo en cuenta el número de plantas presentes en cada parcela con 8,3 % de humedad.

Finalmente, se midió la altura relativa (AR) promedio de 10 plantas con competencia completa como el cociente entre la altura de la planta desde el suelo hasta el nudo de inserción de la espiga (cm) y desde el suelo hasta el extremo apical de la panoja (cm).

### **5. Análisis estadístico**

Los análisis estadísticos están descriptos en la sección materiales y métodos de cada capítulo de la tesis.

## **CAPITULO I**

### **IDENTIFICACIÓN Y ANÁLISIS FENOTÍPICO DE CARACTERES ASOCIABLES A LA PRODUCCIÓN DE ETANOL**

## Introducción

La industria del bioetanol tiene un papel significativo en relación a la mitigación del cambio climático, gracias al interés en el reemplazo de destilados del petróleo crudo, principal recurso utilizado para satisfacer actualmente la demanda energética, por otros combustibles alternativos provenientes de recursos renovables, como los biocombustibles (Monteiro Salles-Filho *et al.*, 2016).

La industria de etanol de primera generación emplea como materia prima granos de maíz obtenidos a partir de cultivares híbridos que han sido seleccionados por su alta productividad de grano por hectárea y tolerancia a factores de estrés, tanto bióticos como abióticos, siendo estos, en líneas generales, los principales criterios tenidos en cuenta también por los agricultores para elegir el cultivar a sembrar.

A partir de la biomasa celulósica del conjunto de los órganos de la planta, a excepción del grano de maíz (como tallo, hojas, chalas y marlo) también se pueden obtener azúcares fermentables para la producción de etanol, conocido como etanol de segunda generación (Darim, 2015).

A diferencia de lo que ocurre en la industria de primera generación, en la de segunda generación hay escasos reportes sobre qué materiales se emplean. Hasta el momento se postula que aquellos materiales con alta digestibilidad (alta calidad forrajera) serían los más apropiados para el proceso (Himmel, 2007).

En líneas generales la característica más importante para la industria de etanol a partir de grano o de biomasa es la cantidad de carbohidratos de reserva y estructurales (almidón, y celulosa y hemicelulosa respectivamente), ya que a partir de su hidrólisis se obtienen los monómeros fermentables que serán convertidos a etanol en el proceso de fermentación (Bothast y Schlicher, 2005).

Se han reportado otras características composicionales del grano y de órganos celulósicos de la planta que podrían incidir sobre el rendimiento de etanol y para las cuales existiría suficiente variabilidad genética (Lorenz *et al.*, 2009-b; Lewis *et al.*, 2010). Esta variabilidad podría explotarse para crear híbridos cuya producción se destine especialmente como materia prima de las plantas elaboradoras de etanol que se encuentran en nuestro país, tanto con destino alimentario/medicinal como para mezclas en combustibles líquidos (Eyhéabide, 2014).

Actualmente no existe una caracterización fenotípica que aborde integralmente a caracteres de calidad de grano, de biomasa, y sus respectivos rendimientos asociables a la producción de biocombustibles. Esta información permitiría establecer parámetros de calidad a considerar en la elección de la materia prima y podría ser incorporada como criterio de selección en programas de mejoramiento orientados al desarrollo de cultivares más aptos para la producción de biocombustibles. Estos enfoques contribuirían a reducir costos y eficientizar los procesos fisicoquímicos y biológicos que involucra la transformación industrial de azúcares y carbohidratos complejos en alcohol.

Nuevos métodos estadísticos permiten profundizar el análisis de las interrelaciones entre grupos de caracteres cuantitativos considerados como variables aleatorias. El análisis factorial en grupo (GFA – *Group Factor Analyses*) es una extensión del análisis factorial que permite capturar la variabilidad conjunta entre grupos de variables y encontrar dependencias entre las mismas (Virtanen *et al.*, 2012; Virtanen *et al.*, 2014).

El presente capítulo comprende el estudio fenotípico a nivel individual y conjunto de caracteres relacionados con los atributos de calidad química, física y de componentes del rendimiento del grano, características de calidad y de rendimiento de la biomasa, la contribución relativa de cada fracción aérea de la planta con respecto a la producción total de materia seca, y el rendimiento de bioetanol obtenible tanto a partir de grano (biocombustible de primera generación) como de la biomasa (biocombustible de segunda generación).



## Materiales y métodos

Se efectuaron análisis de varianzas combinados a través de ambientes empleando modelos lineales mixtos mediante el método de máxima verosimilitud restringida (REML), con el programa META-R versión 6.0 (Alvarado *et al.*, 2016). El factor genotipo (híbridos experimentales y comerciales, Tabla 3 - Materiales y métodos generales) fue considerado como aleatorio para poder estimar la varianza genotípica, en cambio las repeticiones y los ambientes se consideraron como efectos fijos.

Para todas las variables se ajustó el modelo [1] a excepción de rendimiento de grano y rendimiento de biomasa que se ajustaron por un segundo modelo [2] empleando el número de plantas cosechadas como co-variable.

Los modelos ajustados fueron:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \delta_j + \beta(\delta)_{kj} + \alpha\delta_{ij} + \varepsilon_{ijk} \quad [1]$$

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \delta_j + \beta(\delta)_{kj} + \alpha\delta_{ij} + Cov + \varepsilon_{ijk} \quad [2]$$

Donde  $Y_{ijk}$  es la respuesta del genotipo  $i$  para el ambiente  $j$  en la repetición  $k$ ;  $\mu$  es la media general;  $\alpha_i$  es el efecto aleatorio del genotipo  $i$  con  $i = 1, \dots, 25$ ;  $\delta_j$  es el efecto fijo del ambiente  $j$  con  $j = 1, \dots, 5$ ;  $\beta(\delta)_{kj}$  es el efecto fijo de bloque  $k$  con  $k = 1, 2$  dentro del ambiente  $j$ ;  $\alpha\delta_{ij}$  es el efecto aleatorio de la interacción del genotipo  $i$  con el ambiente  $j$ ; y  $\varepsilon_{ijk}$  es el término de error aleatorio asociado a la observación  $Y_{ijk}$ . En el segundo modelo el término  $Cov$ , denota la presencia de la covariable número de plantas.

Con los componentes de varianzas estimados se calculó la heredabilidad en sentido amplio,  $H$  [3] como:

$$H = \frac{\sigma_G^2}{\sigma_G^2 + (\sigma_{GxA}^2)/A + (\sigma_e^2/rxA)} \quad [3]$$

Donde  $\sigma_G^2$  es la varianza debida a los genotipos,  $\sigma_{GxA}^2$  es la varianza debida a la interacción entre el genotipo y el ambiente;  $\sigma_e^2$  es la varianza debida al error;  $r$  es el número de repeticiones y  $A$  es el número de ambientes de evaluación (Falconer y Mackay, 1996).

A su vez se estimaron los BLUPs (*Best Linear Unbiased Predictions* – Mejores Predictores Lineales Insesgados), la media ajustada ( $\mu$ ), el desvío estándar (D.E) y la diferencia mínima significativa (LSD) con un nivel de probabilidad de  $\alpha = 0,05$ .

Para rendimiento de etanol a partir de grano, rendimiento de etanol a partir de biomasa, rendimiento de grano y rendimiento de biomasa se evaluó la estabilidad biológica mediante el coeficiente de variación de cada híbrido a través de ambientes y la estabilidad agronómica en relación al comportamiento promedio de cada genotipo se visualizó mediante un gráfico de GGE biplot (Yan *et al.*, 2000) con el programa GEA-R Versión 4.1 (Pacheco *et al.*, 2017). Éste combina en la matriz el efecto principal del genotipo (G) y la interacción genotipo por ambiente (GE). La matriz de factorización empleada fue JK-biplot (*Row Metric Preserving*) propuesta por Gabriel (1971) que consigue una alta calidad de representación de las filas (genotipos).

La caracterización de los genotipos y la asociación entre grupos de variables se realizaron mediante análisis factorial en grupo o GFA –*Group Factor Analyses* (Virtanen *et al.*, 2012) empleando los BLUPs obtenidos en el análisis de varianza a través de ambientes con los modelos [1] y [2].

El análisis factorial en grupo asume que la matriz de factorización  $Y \in R^{N \times Dm}$  con  $N$  observaciones y  $Dm$  grupos iniciales, puede ser aproximada por la ecuación [4]:

$$Y = ZW' + E \quad [4]$$

Dónde  $Z \in R^{N \times K}$ , es la matriz de variables o factores latentes, siendo  $K$  el número de factores. Esta matriz describe los datos observados en un espacio dimensional reducido y la matriz  $W \in R^{Dm \times K}$  proporciona la carga de los factores (una relación entre el espacio de los factores latentes y el espacio de los grupos iniciales con  $m$  variables) y  $E$  es el error experimental (Virtanen *et al.*, 2012; Klami *et al.*, 2014)

La biblioteca GFA (GFA –*Group Factor Analyses*) disponible en el software R (R Core Team, 2018) implementa un esquema de muestreo de Gibbs para inferir el número de factores latentes (Leppäaho *et al.*, 2017). Los parámetros utilizados en la inferencia fueron:  $k = 9$  componentes,  $iter.max = 30.000$  e  $iter.burnin = 15.000$ . El test de convergencia para las cadenas de Markov se realizó mediante el diagnóstico de Geweke (1992) donde valores menores a 0,05 de este estadístico implican convergencia. Además, para evaluar

la calidad de reconstrucción se efectuó un análisis de correlación de Mantel (Mantel, 1967) entre la matriz original y la matriz reconstruida.

La matriz de datos original ( $X^{m \times N}$ ) comprende los BLUPs para las  $m = 34$  variables (caracteres) estudiadas en los  $N = 25$  genotipos. Esta matriz fue centrada y estandarizada y su factorización ( $Y^{Dm}$ ) consistió en cuatro grupos iniciales [5], con  $Dm = 4$

$$Y^{Dm} = [X_1, X_2, X_3, X_4], \quad [5]$$

Siendo  $X_1$  la matriz formada por variables asociadas a las determinaciones químicas de calidad del grano (excepto la concentración de amilosa) (DQCG),  $X_2$  la matriz formada por las determinaciones físicas de calidad de grano (DFCG);  $X_3$  la matriz formada por las determinaciones químicas de calidad de biomasa (DQCB) y  $X_4$  la matriz formada con variables asociadas a características agronómicas y productivas (CAYP).

La evaluación de las propiedades térmicas del almidón se centró en un análisis de varianza a través de ambientes con los híbridos desarrollados por INTA-EEA Pergamino a partir del modelo [1] aplicado a los parámetros de gelatinización y retrogradación obtenidos mediante DSC.

## Resultados

Esta sección se divide en tres partes: Análisis de varianza, Análisis de estabilidad biológica y agronómica y Análisis factorial en grupos – GFA.

### 1. Análisis de varianza

En el análisis de varianza para las determinaciones químicas y físicas de calidad de los granos (DQCG y DFCEG, Tabla 1.2) se observó que para todos los caracteres asociados a DQCG hubo variabilidad genotípica ( $p\text{-valor} < 0,01$ ) e interacciones entre genotipos con el ambiente sólo para la concentración de aceite, de ácido esteárico y de rendimiento de etanol a partir de grano ( $p\text{-valor} < 0,01$ ). La heredabilidad en sentido amplio para este grupo de variables osciló entre 0,88 y 0,99.

La composición promedio del grano de maíz estuvo dada por  $70,5 \pm 1,5$  % de contenido de almidón,  $9,5 \pm 0,7$  % contenido de proteína y  $4,9 \pm 0,8$  % de contenido de aceite con el siguiente perfil de ácido grasos:  $11,7 \pm 1,4$  % de ácido palmítico,  $2,1 \pm 0,4$  % de ácido esteárico,  $29,9 \pm 6,6$  % de ácido oleico,  $55,2 \pm 6,5$  % de ácido linoleico y  $1,1 \pm 0,2$  % de ácido linolénico (Tabla 1.2).

Para todas las características asociadas a DFCEG se detectó variabilidad debida a los genotipos ( $p\text{-valor} < 0,01$ ). La varianza de interacción genotipo por ambiente solo resultó estadísticamente significativa para el índice de flotación ( $p\text{-valor} < 0,01$ ). La heredabilidad en sentido amplio para estos caracteres estuvo comprendida entre 0,76 y 0,94.

Los materiales en estudio presentaron gran variabilidad en los caracteres asociados a la dureza de grano. Fueron empleadas las escalas de Palacios Rojas (2018) y Eyhéabide *et al.*, (1996) para clasificar a los híbridos en función a su dureza de grano. Adicionalmente, la incorporación de la densidad de granos (Correa *et al.*, 2002) permitió establecer un gradiente de dureza del grano (Tabla 1.3).

**Tabla 1.2.** Componentes de varianzas estimados por REMLs y los BLUPs obtenidos para variables asociadas a características de calidad química y física de los granos para 25 híbridos de maíz (ID según Tabla 1.1) evaluados en cinco ambientes del norte de la provincia de Buenos Aires distribuidos en dos campañas agrícolas.

| Var                     | CAL                              | PRT                | CA             | AP                 | AE             | AO                 | ALI                | ALN                | REGN               | PH                  | RM                 | IF               | DG                    |
|-------------------------|----------------------------------|--------------------|----------------|--------------------|----------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|---------------------|--------------------|------------------|-----------------------|
| UM                      | -----g.100.g <sup>-1</sup> ----- |                    |                |                    |                |                    |                    |                    | l.Mg <sup>-1</sup> | kg.hl <sup>-1</sup> | -                  | %                | g.ml <sup>-1</sup>    |
| FV.                     | ANOVA                            |                    |                |                    |                |                    |                    |                    |                    |                     |                    |                  |                       |
| $\sigma_G^2$            | <b>2,55***</b>                   | <b>0,53***</b>     | <b>0,62***</b> | <b>2,11***</b>     | <b>0,18***</b> | <b>44,64***</b>    | <b>43,38***</b>    | <b>0,05***</b>     | <b>53,54***</b>    | <b>1,59***</b>      | <b>0,49***</b>     | <b>256,35***</b> | <b>3,8E-04**</b>      |
| $\sigma_{G \times A}^2$ | 0,25 <sup>ns</sup>               | 0,10 <sup>ns</sup> | <b>0,02**</b>  | 0,01 <sup>ns</sup> | <b>0,02***</b> | 0,48 <sup>ns</sup> | 0,66 <sup>ns</sup> | 0,00 <sup>ns</sup> | <b>13,78**</b>     | 0,34 <sup>ns</sup>  | 0,00 <sup>ns</sup> | <b>54,13**</b>   | 2,1E-04 <sup>ns</sup> |
| $\sigma_e^2$            | 1,16                             | 0,40               | 0,03           | 0,25               | 0,04           | 5,94               | 4,90               | 0,02               | 36,99              | 1,20                | 0,33               | 116,20           | 7,6E-040              |
| CV                      | 1,53                             | 6,67               | 3,43           | 4,27               | 9,06           | 8,16               | 4,01               | 11,62              | 1,29               | 1,44                | 15,54              | 17,13            | 2,25                  |
| H                       | 0,94                             | 0,90               | 0,99           | 0,99               | 0,96           | 0,98               | 0,99               | 0,96               | 0,89               | 0,89                | 0,94               | 0,92             | 0,76                  |
| ID                      | BLUP                             |                    |                |                    |                |                    |                    |                    |                    |                     |                    |                  |                       |
| 1                       | 70,12                            | 10,07              | 5,38           | 9,85               | 2,00           | 29,79              | 57,44              | 0,89               | 469,38             | 76,88               | 4,07               | 60,73            | 1,23                  |
| 2                       | 72,05                            | 8,23               | 4,42           | 9,49               | 1,97           | 22,97              | 64,41              | 1,17               | 481,49             | 74,59               | 2,48               | 80,34            | 1,20                  |
| 3                       | 71,25                            | 9,81               | 4,90           | 10,41              | 2,22           | 29,70              | 56,63              | 1,03               | 473,06             | 76,61               | 3,74               | 68,09            | 1,24                  |
| 4                       | 70,19                            | 9,28               | 5,38           | 10,04              | 2,50           | 29,24              | 57,37              | 0,85               | 474,42             | 76,12               | 3,55               | 59,00            | 1,22                  |
| 5                       | 67,42                            | 10,52              | 5,61           | 10,70              | 2,00           | 34,84              | 51,57              | 0,90               | 457,38             | 76,86               | 4,38               | 55,97            | 1,25                  |
| 6                       | 69,05                            | 8,90               | 5,20           | 10,61              | 2,21           | 28,75              | 57,39              | 1,04               | 473,54             | 76,12               | 3,31               | 67,04            | 1,24                  |
| 7                       | 67,35                            | 10,36              | 5,52           | 12,37              | 2,53           | 35,17              | 48,86              | 1,04               | 459,04             | 76,49               | 4,51               | 61,03            | 1,24                  |
| 8                       | 67,65                            | 10,74              | 5,08           | 11,58              | 2,03           | 34,70              | 50,60              | 1,10               | 458,00             | 76,12               | 4,99               | 62,10            | 1,23                  |
| 9                       | 70,19                            | 9,30               | 4,65           | 11,43              | 2,16           | 27,64              | 57,42              | 1,32               | 474,24             | 75,95               | 3,55               | 62,84            | 1,23                  |
| 10                      | 69,84                            | 9,50               | 4,40           | 9,97               | 1,78           | 27,22              | 59,95              | 1,08               | 472,18             | 75,00               | 3,63               | 64,34            | 1,23                  |
| 11                      | 70,69                            | 9,71               | 4,70           | 10,23              | 1,71           | 30,32              | 56,55              | 1,23               | 471,69             | 76,78               | 4,07               | 61,60            | 1,23                  |
| 12                      | 69,06                            | 10,51              | 6,65           | 10,57              | 2,69           | 36,77              | 48,88              | 0,82               | 461,55             | 77,69               | 4,46               | 28,78            | 1,26                  |
| 13                      | 70,52                            | 9,61               | 5,00           | 11,49              | 1,64           | 31,79              | 53,92              | 1,17               | 469,34             | 78,09               | 4,75               | 38,89            | 1,25                  |
| 14                      | 70,30                            | 9,64               | 6,44           | 12,46              | 2,13           | 35,30              | 49,02              | 1,03               | 468,82             | 77,42               | 4,11               | 28,72            | 1,25                  |
| 15                      | 71,61                            | 8,90               | 4,18           | 13,07              | 2,04           | 26,71              | 57,01              | 1,21               | 476,35             | 75,79               | 3,77               | 72,47            | 1,22                  |
| 16                      | 71,36                            | 8,73               | 4,22           | 10,72              | 1,91           | 31,43              | 54,77              | 1,19               | 478,94             | 75,45               | 3,50               | 78,23            | 1,21                  |
| 17                      | 71,83                            | 8,78               | 4,66           | 13,04              | 2,22           | 29,86              | 53,92              | 0,96               | 481,75             | 74,07               | 3,09               | 75,89            | 1,20                  |
| 18                      | 71,53                            | 8,84               | 4,71           | 13,72              | 1,77           | 22,59              | 60,44              | 1,53               | 473,55             | 74,29               | 2,90               | 76,10            | 1,22                  |
| 19                      | 72,11                            | 8,74               | 4,28           | 13,40              | 2,24           | 24,06              | 58,82              | 1,46               | 477,95             | 75,25               | 3,62               | 59,28            | 1,23                  |
| 20                      | 71,96                            | 9,35               | 3,83           | 12,44              | 1,77           | 21,85              | 62,32              | 1,62               | 472,36             | 74,17               | 2,98               | 84,59            | 1,20                  |
| 21                      | 72,65                            | 8,50               | 4,48           | 12,51              | 2,15           | 23,51              | 60,61              | 1,26               | 479,44             | 75,79               | 2,98               | 76,04            | 1,23                  |
| 22                      | 71,56                            | 9,48               | 4,17           | 14,24              | 2,14           | 27,57              | 54,74              | 1,28               | 474,75             | 75,15               | 3,56               | 71,03            | 1,21                  |
| 23                      | 71,80                            | 9,31               | 3,29           | 13,72              | 1,76           | 21,39              | 61,76              | 1,44               | 474,30             | 74,99               | 2,83               | 74,11            | 1,23                  |
| 24                      | 71,33                            | 9,30               | 4,99           | 13,33              | 1,84           | 30,05              | 53,54              | 1,28               | 471,14             | 77,82               | 3,56               | 42,05            | 1,23                  |
| 25                      | 69,34                            | 10,30              | 5,98           | 10,70              | 3,57           | 53,12              | 31,61              | 0,94               | 463,85             | 75,46               | 4,62               | 64,04            | 1,24                  |
| $\mu$                   | 70,51                            | 9,46               | 4,89           | 11,68              | 2,12           | 29,85              | 55,18              | 1,15               | 471,54             | 75,96               | 3,72               | 62,93            | 1,23                  |
| LSD                     | 1,00                             | 0,53               | 0,20           | 0,43               | 0,23           | 2,12               | 2,02               | 0,11               | 4,85               | 1,01                | 0,48               | 11,86            | 0,02                  |

Var: Variable; CAL: Concentración de almidón; PRT: Concentración de proteína; CA: Concentración de aceite; AP: Ácido palmítico; AE: Ácido esteárico; AO: Ácido oleico; ALI: Ácido linoléico ALN: Ácido linolénico; REGN: Rendimiento de etanol a partir de grano, PH: Peso hectolítrico; RM: Relación de molienda; IF: Índice de flotación; DG: Densidad de grano. UM: Unidad de medida; FV: Fuente de variación;  $\sigma_G^2$ : Varianza Genotípica;  $\sigma_{G \times A}^2$ : Varianza Genotipo por Ambiente;  $\sigma_e^2$ : Varianza residual; CV: Coeficiente de variación; H: Heredabilidad; ID: Identificación del Genotipo;  $\mu$ : media ajustada; LSD: Diferencia mínima significativa (Nivel de significancia  $\alpha$ : 0.05%).

<sup>ns</sup> No significativa; \*, \*\*, \*\*\* Significancia a un nivel de probabilidad de 0,05; 0,01 y 0,001 respectivamente.

**Tabla 1.3** Clasificación de los genotipos (ID en Tabla 1.1) según la dureza del endospermo del grano según para índice de flotación (IF), peso hectolítrico (PH), peso hectolítrico en conjunto con relación de molienda (RM) y densidad del grano (DG) realizada según los diferentes autores.

| Clasificación     | IF (%)                                                                             | PH (kg.hl <sup>-1</sup> )                                                                          | PH (kg.hl <sup>-1</sup> )                                                      | RM | DG (g.ml <sup>-1</sup> )                                                                                                                                                       |
|-------------------|------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------|----|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Duro</b>       | 12 – 14                                                                            | 3 - 4 - 5 - 6<br>- 7 - 8 - 9 -<br>11 - 12 - 13<br>- 14 - 15 -<br>16 - 19 - 21<br>- 22 - 24 –<br>25 | -                                                                              |    | Genotipos<br>ordenados de<br>mayor a menor<br>12 - 5 - 13 - 14 - 3 -<br>6 - 7 - 25 - 1 - 8 - 9 -<br>10 - 11 - 19 - 21 -<br>23 - 24 – 4 - 15 – 2<br>- 18 - 16 - 22 - 17 –<br>20 |
| <b>Intermedio</b> | 1 - 4 - 5 - 7<br>- 11 - 13 -<br>19 – 24                                            | 2 - 10 - 17 -<br>18 - 20 - 22                                                                      | 1 - 3 - 5 - 7 - 8 - 11 - 12 -<br>13 - 14 - 24 – 25                             |    |                                                                                                                                                                                |
| <b>Suave</b>      | 2 - 3 - 6 - 8<br>- 9 - 10 - 15<br>- 16 - 17 -<br>18 - 20 - 21<br>- 22 - 23 –<br>25 | -                                                                                                  | 2 - 4 - 6 - 8 - 9 - 10 - 14 -<br>15 - 16 - 17 - 18 - 19 - 20<br>- 21 - 22 – 23 |    |                                                                                                                                                                                |
| Referencia        | Palacios Rojas, 2018                                                               |                                                                                                    | Eyhérabide <i>et al.</i> , 1996                                                |    | Correa <i>et al.</i> , 2002                                                                                                                                                    |

Con respecto a las características de calidad química de biomasa (Tabla 1.4) se observó variabilidad entre los genotipos evaluados ( $p - \text{valor} < 0,05$ ). Todas las variables presentaron interacción genotipo por ambiente ( $p - \text{valor} < 0,05$ ) a excepción de la digestibilidad de FDN.

El rendimiento de etanol a partir de biomasa, y las concentraciones de fibra detergente neutro, hemicelulosa y celulosa presentaron heredabilidades en sentido amplio menores que el resto de las características evaluadas ( $H \leq 0,70$ ), siendo para el rendimiento de etanol a partir de biomasa 0,47.

La calidad de la biomasa (DQCB, Tabla 1.4) estuvo caracterizada por promedios de  $79,7 \pm 0,7$  g.100 g<sup>-1</sup> de FDN;  $42,5 \pm 0,9$  g.100 g<sup>-1</sup> de FDA;  $7,2 \pm 0,3$  g.100 g<sup>-1</sup> de LDA;  $35,2 \pm 0,6$  g.100 g<sup>-1</sup> de CE y  $37,2 \pm 0,5$  g.100 g<sup>-1</sup> de HE.

**Tabla 1.4.** Componentes de varianzas estimados por REMLs y los predictores BLUPs obtenidos para variables asociadas a características de calidad química de biomasa correspondientes a 25 híbridos de maíz (ID en Tabla 1.1) evaluados en cinco ambientes del norte de la provincia de Buenos Aires distribuidos en dos campañas agrícolas.

| Variables               | FDN                              | FDA                       | LDA                       | CE                        | HE                        | DIVF                      | DFDN                      | REB                       |
|-------------------------|----------------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| UM                      | -----g.100.g <sup>-1</sup> ----- |                           |                           |                           |                           | -----%-----               |                           | l.Mg <sup>-1</sup>        |
| FV                      | ANOVA                            |                           |                           |                           |                           |                           |                           |                           |
| $\sigma_G^2$            | <b>0,81<sup>***</sup></b>        | <b>1,04<sup>***</sup></b> | <b>0,12<sup>***</sup></b> | <b>0,61<sup>***</sup></b> | <b>0,36<sup>***</sup></b> | <b>3,93<sup>***</sup></b> | <b>7,95<sup>***</sup></b> | <b>28,41<sup>*</sup></b>  |
| $\sigma_{G \times A}^2$ | <b>1,31<sup>**</sup></b>         | <b>0,57<sup>*</sup></b>   | <b>0,04<sup>**</sup></b>  | <b>0,54<sup>**</sup></b>  | <b>0,32<sup>*</sup></b>   | <b>0,75<sup>*</sup></b>   | 0,76 <sup>ns</sup>        | <b>68,24<sup>**</sup></b> |
| $\sigma_e^2$            | 3,59                             | 1,89                      | 0,12                      | 1,57                      | 1,18                      | 3,21                      | 6,17                      | 181,22                    |
| CV                      | 2,38                             | 3,24                      | 4,80                      | 3,55                      | 2,92                      | 4,26                      | 8,11                      | 2,58                      |
| H                       | 0,56                             | 0,77                      | 0,85                      | 0,70                      | 0,66                      | 0,89                      | 0,91                      | 0,47                      |
| ID                      | BLUP                             |                           |                           |                           |                           |                           |                           |                           |
| 1                       | 78,89                            | 41,44                     | 7,24                      | 34,31                     | 37,16                     | 42,80                     | 30,71                     | 516,16                    |
| 2                       | 79,26                            | 41,85                     | 7,08                      | 34,81                     | 37,29                     | 43,16                     | 31,26                     | 519,05                    |
| 3                       | 78,88                            | 41,37                     | 6,89                      | 34,53                     | 38,22                     | 43,23                     | 30,95                     | 517,53                    |
| 4                       | 80,30                            | 42,67                     | 6,91                      | 35,68                     | 36,92                     | 42,78                     | 31,78                     | 525,94                    |
| 5                       | 79,81                            | 42,32                     | 6,83                      | 35,44                     | 37,75                     | 44,09                     | 34,57                     | 523,36                    |
| 6                       | 80,29                            | 42,75                     | 7,08                      | 35,62                     | 37,19                     | 42,94                     | 32,26                     | 525,20                    |
| 7                       | 79,91                            | 42,46                     | 6,94                      | 35,47                     | 36,69                     | 43,31                     | 32,98                     | 523,45                    |
| 8                       | 79,03                            | 41,04                     | 7,07                      | 34,09                     | 37,20                     | 43,32                     | 32,83                     | 517,69                    |
| 9                       | 78,91                            | 41,43                     | 6,75                      | 34,70                     | 36,56                     | 44,87                     | 34,57                     | 518,24                    |
| 10                      | 79,09                            | 41,56                     | 6,64                      | 34,91                     | 36,78                     | 44,80                     | 34,44                     | 519,76                    |
| 11                      | 80,64                            | 42,59                     | 7,41                      | 35,22                     | 36,87                     | 41,63                     | 30,14                     | 526,04                    |
| 12                      | 80,43                            | 43,83                     | 7,45                      | 36,29                     | 37,25                     | 40,19                     | 28,70                     | 524,57                    |
| 13                      | 80,22                            | 42,57                     | 7,31                      | 35,27                     | 37,50                     | 40,54                     | 28,93                     | 523,90                    |
| 14                      | 80,25                            | 43,27                     | 7,89                      | 35,43                     | 37,28                     | 40,22                     | 27,92                     | 521,78                    |
| 15                      | 80,53                            | 44,23                     | 7,64                      | 36,49                     | 36,72                     | 40,23                     | 29,23                     | 524,41                    |
| 16                      | 79,88                            | 42,74                     | 7,37                      | 35,37                     | 38,13                     | 40,64                     | 28,98                     | 521,59                    |
| 17                      | 79,72                            | 43,27                     | 7,59                      | 35,68                     | 36,74                     | 40,82                     | 28,73                     | 519,77                    |
| 18                      | 79,53                            | 42,76                     | 7,32                      | 35,43                     | 36,21                     | 41,77                     | 29,50                     | 519,69                    |
| 19                      | 79,41                            | 42,49                     | 7,28                      | 35,22                     | 37,21                     | 41,29                     | 28,56                     | 519,14                    |
| 20                      | 80,07                            | 42,66                     | 7,38                      | 35,29                     | 37,76                     | 41,35                     | 29,40                     | 522,68                    |
| 21                      | 80,42                            | 43,39                     | 7,41                      | 35,93                     | 37,49                     | 39,28                     | 26,76                     | 524,69                    |
| 22                      | 79,66                            | 43,00                     | 7,40                      | 35,59                     | 37,68                     | 40,10                     | 27,92                     | 520,15                    |
| 23                      | 79,56                            | 41,22                     | 6,64                      | 34,60                     | 37,48                     | 46,81                     | 37,72                     | 522,60                    |
| 24                      | 80,20                            | 43,72                     | 7,31                      | 36,31                     | 37,66                     | 39,75                     | 27,64                     | 523,76                    |
| 25                      | 77,84                            | 41,11                     | 7,16                      | 34,08                     | 37,19                     | 42,44                     | 29,11                     | 510,20                    |
| $\mu$                   | 79,71                            | 42,47                     | 7,20                      | 35,27                     | 37,24                     | 42,09                     | 30,62                     | 521,25                    |
| LSD                     | 1,18                             | 0,97                      | 0,27                      | 0,86                      | 0,69                      | 1,33                      | 1,72                      | 7,74                      |

FDN: fibra detergente neutro; FDA: fibra detergente ácido; LDA: lignina detergente ácido; CE: celulosa; HE: hemicelulosa; DIVF: digestibilidad *in vitro* de la fibra; DFDN: digestibilidad de FDN; REB: Rendimiento de etanol a partir de biomasa; FV: Fuente de variación;  $\sigma_G^2$ : Varianza Genotípica;  $\sigma_{G \times A}^2$ : Varianza Genotipo por Ambiente;  $\sigma_e^2$ : Varianza residual; CV: Coeficiente de variación; H: Heredabilidad; ID: Identificación del Genotipo;  $\mu$ : media ajustada; LSD: Diferencia mínima significativa (Nivel de significancia  $\alpha$ : 0,05%). <sup>ns</sup> No significativa; Significancia a un nivel de probabilidad de \* 0,05; \*\* 0,01 y \*\*\* 0,001.

Los promedios de rendimientos de etanol a partir de grano (REGN) y de biomasa (REB) obtenidos fueron  $471,5 \pm 6,9 \text{ l.Mg}^{-1}$  y  $521,2 \pm 3,7 \text{ l.Mg}^{-1}$ , respectivamente. Los menores rendimientos de etanol a partir de grano y de biomasa se encontraron en los genotipos 5 (LP214 x LP661) y 1 (LP29 x LP661) respectivamente, mientras que los mayores rendimientos de etanol de grano los presentaron los genotipos 2 (LP29 x LP2542) y 17 (480 MG) y a partir de biomasa en los genotipos 4 (LP214 x LP29) y 11 (470 VT3 Pro).

Los componentes de varianza y los BLUPs para las características agronómicas y productivas se presentan en la Tabla 1.5. Se detectó varianza de interacción genotipo por ambiente y varianza debida a los genotipos estadísticamente significativas ( $p - \text{valor} < 0,05$ ) para todas las CAYP evaluadas, excepto para el peso seco de marlo (PSM) y de chala (PSC), cuyas varianzas estadísticamente significativas ( $p - \text{valor} < 0,001$ ) fueron debidas solo a los genotipos, sin presencia de interacción genotipo por ambiente.

El promedio de rendimiento de biomasa (RB) total fue  $8,3 \pm 0,8 \text{ Mg.ha}^{-1}$  y el promedio de rendimiento de grano (RG) fue  $11,0 \pm 1,1 \text{ Mg.ha}^{-1}$ . El índice de cosecha (IC) promedio fue  $0,5 \pm 0,03$  con un rango de  $0,46 - 0,57$ . El genotipo 24 (2A 120 PW) presentó el IC más bajo (0,46) y mostró el mayor RB ( $9,8 \text{ Mg.ha}^{-1}$ ). Los genotipos 16 (473 MG RR2) y 4 (LP214 x LP29) presentaron los IC más altos (0,56), siendo este último genotipo el de menor RB ( $6,5 \text{ Mg.ha}^{-1}$ ).

En promedio las distintas fracciones contribuyeron en distinto grado al peso seco total: 51,9% PSG (grano); 35,9% PSTH (tallos + hojas); 4,9% PSC (chalas) y 7,7% PSM (marlos). El peso seco promedio del marlo representó el 15,9% de la biomasa aérea total.



**Tabla 1.5.** Componentes de varianzas estimados por REMLs y los predictores BLUPs obtenidos para variables asociadas a características agronómicas y productivas para 25 híbridos de maíz (codificaciones en Tabla 1.1) evaluados en cinco ambientes del norte de la provincia de Buenos Aires distribuidos en dos campañas agrícolas.

| Var              | DFF     | AR         | PM        | DES          | LES     | NH                             | PSTH    | PSC                   | PSM                | PSG     | RG      | RB      | IC        |
|------------------|---------|------------|-----------|--------------|---------|--------------------------------|---------|-----------------------|--------------------|---------|---------|---------|-----------|
| UM               | Días    |            | G         | ----- cm---- | -       | -----Mg.ha <sup>-1</sup> ----- |         |                       |                    |         |         |         |           |
| FV               | ANOVA   |            |           |              |         |                                |         |                       |                    |         |         |         |           |
| $\sigma_G^2$     | 3,15*** | 8,5E-04*** | 348,91*** | 0,04***      | 0,46*** | 1,82***                        | 0,60*** | 0,02***               | 0,03***            | 0,92*** | 1,56*** | 0,80*** | 8,9E04*** |
| $\sigma_{GXA}^2$ | 1,48*** | 1,9E-04*   | 131,69*** | 0,01***      | 0,37*** | 0,12**                         | 0,11*   | 3,3E-03 <sup>ns</sup> | 0,01 <sup>ns</sup> | 0,77*** | 0,77*** | 0,20*   | 4,4E-04** |
| $\sigma_e^2$     | 1,87    | 7,8E-04    | 195,83    | 0,04         | 0,80    | 0,34                           | 0,42    | 0,05                  | 0,13               | 1,49    | 1,19    | 0,69    | 1,2E-03   |
| CV               | 1,76    | 6,52       | 4,89      | 3,80         | 5,07    | 3,40                           | 9,30    | 22,67                 | 23,85              | 12,03   | 9,92    | 9,96    | 6,74      |
| H                | 0,87    | 0,88       | 0,88      | 0,86         | 0,75    | 0,96                           | 0,90    | 0,77                  | 0,68               | 0,75    | 0,85    | 0,88    | 0,81      |
| ID               | BLUPS   |            |           |              |         |                                |         |                       |                    |         |         |         |           |
| 1                | 77,31   | 0,41       | 303,96    | 5,05         | 17,23   | 18,20                          | 7,33    | 1,16                  | 1,69               | 9,31    | 9,89    | 8,89    | 0,48      |
| 2                | 77,05   | 0,38       | 289,62    | 4,99         | 18,21   | 17,90                          | 6,45    | 0,79                  | 1,56               | 9,19    | 9,25    | 7,69    | 0,51      |
| 3                | 77,40   | 0,41       | 307,27    | 4,86         | 18,36   | 17,40                          | 7,33    | 0,95                  | 1,60               | 9,50    | 9,93    | 8,89    | 0,49      |
| 4                | 76,44   | 0,37       | 263,29    | 4,83         | 16,99   | 18,24                          | 5,35    | 0,80                  | 1,39               | 9,76    | 10,44   | 6,55    | 0,56      |
| 5                | 75,49   | 0,44       | 260,33    | 4,90         | 17,17   | 18,10                          | 6,12    | 0,92                  | 1,58               | 9,82    | 10,20   | 7,26    | 0,52      |
| 6                | 76,36   | 0,41       | 256,33    | 5,03         | 17,09   | 19,30                          | 5,60    | 0,77                  | 1,48               | 9,54    | 10,32   | 6,63    | 0,54      |
| 7                | 76,44   | 0,41       | 267,87    | 4,83         | 16,59   | 17,10                          | 6,07    | 0,93                  | 1,41               | 10,15   | 10,26   | 7,37    | 0,54      |
| 8                | 79,05   | 0,47       | 278,63    | 4,90         | 17,02   | 16,07                          | 7,35    | 1,06                  | 1,56               | 8,82    | 9,68    | 8,78    | 0,47      |
| 9                | 77,75   | 0,42       | 296,18    | 4,90         | 18,25   | 15,92                          | 7,07    | 0,87                  | 1,67               | 9,89    | 11,26   | 8,39    | 0,50      |
| 10               | 76,27   | 0,46       | 309,67    | 5,22         | 18,33   | 17,66                          | 7,72    | 0,88                  | 1,77               | 10,32   | 10,26   | 8,86    | 0,50      |
| 11               | 76,70   | 0,43       | 265,48    | 4,64         | 16,54   | 14,80                          | 6,45    | 0,81                  | 1,59               | 10,34   | 12,14   | 7,55    | 0,54      |
| 12               | 78,18   | 0,46       | 283,57    | 4,85         | 17,59   | 16,32                          | 7,07    | 0,95                  | 1,53               | 10,39   | 11,73   | 8,42    | 0,52      |
| 13               | 76,62   | 0,42       | 271,20    | 4,96         | 17,58   | 17,08                          | 6,91    | 1,12                  | 1,40               | 10,27   | 11,48   | 8,46    | 0,52      |
| 14               | 76,44   | 0,47       | 296,21    | 5,05         | 17,97   | 16,78                          | 7,53    | 0,93                  | 1,36               | 11,16   | 12,73   | 8,88    | 0,53      |
| 15               | 77,05   | 0,41       | 307,78    | 5,00         | 17,45   | 16,55                          | 8,07    | 0,96                  | 1,28               | 11,08   | 12,03   | 9,39    | 0,53      |
| 16               | 75,92   | 0,43       | 294,98    | 5,22         | 17,17   | 18,10                          | 6,69    | 0,82                  | 1,33               | 11,16   | 12,81   | 7,88    | 0,56      |
| 17               | 78,18   | 0,41       | 289,54    | 5,06         | 17,45   | 17,74                          | 7,50    | 0,90                  | 1,25               | 10,29   | 11,78   | 8,83    | 0,52      |
| 18               | 75,84   | 0,41       | 260,79    | 5,09         | 17,51   | 19,57                          | 6,95    | 0,95                  | 1,44               | 10,59   | 12,12   | 8,31    | 0,53      |
| 19               | 76,44   | 0,45       | 305,94    | 5,03         | 17,86   | 15,54                          | 7,73    | 1,06                  | 1,51               | 11,16   | 12,25   | 9,18    | 0,52      |
| 20               | 75,92   | 0,41       | 304,63    | 4,97         | 18,63   | 17,00                          | 7,22    | 1,07                  | 1,57               | 11,96   | 11,96   | 8,72    | 0,55      |
| 21               | 76,44   | 0,42       | 302,20    | 4,97         | 18,06   | 17,20                          | 7,30    | 0,95                  | 1,53               | 10,93   | 12,57   | 8,65    | 0,53      |
| 22               | 82,17   | 0,47       | 286,11    | 5,59         | 18,15   | 19,94                          | 7,83    | 0,97                  | 1,83               | 10,03   | 10,61   | 9,13    | 0,48      |
| 23               | 81,30   | 0,45       | 264,05    | 4,75         | 17,65   | 14,61                          | 6,32    | 0,81                  | 1,41               | 8,40    | 9,07    | 7,47    | 0,48      |
| 24               | 79,13   | 0,45       | 293,64    | 4,86         | 16,69   | 15,54                          | 8,29    | 1,17                  | 1,59               | 9,58    | 10,33   | 9,84    | 0,46      |
| 25               | 78,79   | 0,46       | 285,68    | 5,21         | 17,76   | 16,50                          | 6,84    | 1,10                  | 1,42               | 9,52    | 9,90    | 8,16    | 0,50      |
| $\mu$            | 77,39   | 0,43       | 285,80    | 4,99         | 17,57   | 17,17                          | 7,00    | 0,95                  | 1,51               | 10,13   | 11,00   | 8,33    | 0,52      |
| LSD              | 1,30    | 0,02       | 16,00     | 0,23         | 0,67    | 0,48                           | 0,49    | 0,13                  | 0,20               | 0,95    | 0,99    | 0,64    | 0,03      |

Var: variable; DFF: Días a floración femenina; AR: Altura relativa; PM: peso de 1000 granos; Diámetro de la espiga (DES) y largo (LES); NH: Número de hileras; Pesos secos de tallos y hojas (PSTH), chala (PSC), marlo (PSM) y grano (PSG); RG: Rendimiento de grano; RB: Rendimiento de biomasa; IC: Índice de cosecha. FV: Fuente de variación;  $\sigma_G^2$ : Varianza Genotípica;  $\sigma_{G \times A}^2$ : Varianza Genotipo por Ambiente;  $\sigma_e^2$ : Varianza residual; CV: Coeficiente de variación; H: Heredabilidad; ID: Identificación del Genotipo;  $\mu$ : media ajustada; LSD: Diferencia mínima significativa (Nivel de significancia  $\alpha$ : 0.05%). <sup>ns</sup> No significativa; \*, \*\*, \*\*\* Significancia a un nivel de probabilidad de 0.05; 0.01 y 0.001 respectivamente.

## 2. Análisis de estabilidad biológica y agronómica

Los análisis de estabilidad biológica realizados para rendimientos de etanol a partir de grano (REGN) y de biomasa (REB) y rendimientos de grano (RG) y de biomasa (RB) (Figura 1.1) indican que algunos genotipos presentaron comportamiento biológicamente estable para más de un carácter, como el híbrido 4 (LP214 x LP29) para REGN y REB, el 11 (470 VT3 Pro) para REGN y RG, el 14 (498 MG RR2) para RG, REB y RB, el 15 (480 RR2) para REGN, RG, y REB, el genotipo 17 (480 MG) para REGN y RB, el 18 (512 PW) para RG y RB y el 21 (507 PW) para REGN, REB y RB.

Los genotipos de INTA se destacaron por su estabilidad biológica y comportamiento para REGN 2 (LP29 x LP2542) – 3 (LP923 x LP29) – 4 (LP214 x LP29) y 10 (LP661 x LP2542)), REB (4 (LP214 x LP29) – 5 (LP214 x LP661) y 6 (LP214 x LP2542)) y RB (8 (LP923 x LP661) y 9 (LP923 x LP2542) pero no se pudo identificar genotipos de INTA con estos atributos para RG.

Mediante un *biplot* GGE se evaluó la estabilidad y el rendimiento promedio de etanol a partir de grano (REGN) y de biomasa (REB) y el rendimiento de grano (RG) y de biomasa (RB). En cada gráfico (Figura 1.2) los genotipos se ordenaron de mayor a menor a lo largo del eje de abscisas del ambiente promedio o abscisa AEC del inglés *average environment coordinates* (la recta que pasa por el origen del biplot) con el sentido de la flecha indicando mayores rendimientos. La abscisa AEC representa a los efectos genotípicos y la ordenada representa a los efectos de interacción genotipo por ambiente, por lo que la proyección sobre la ordenada describe la variabilidad o inestabilidad del comportamiento de los genotipos. A mayor proyección sobre el eje de las ordenadas corresponderá mayor inestabilidad del genotipo.

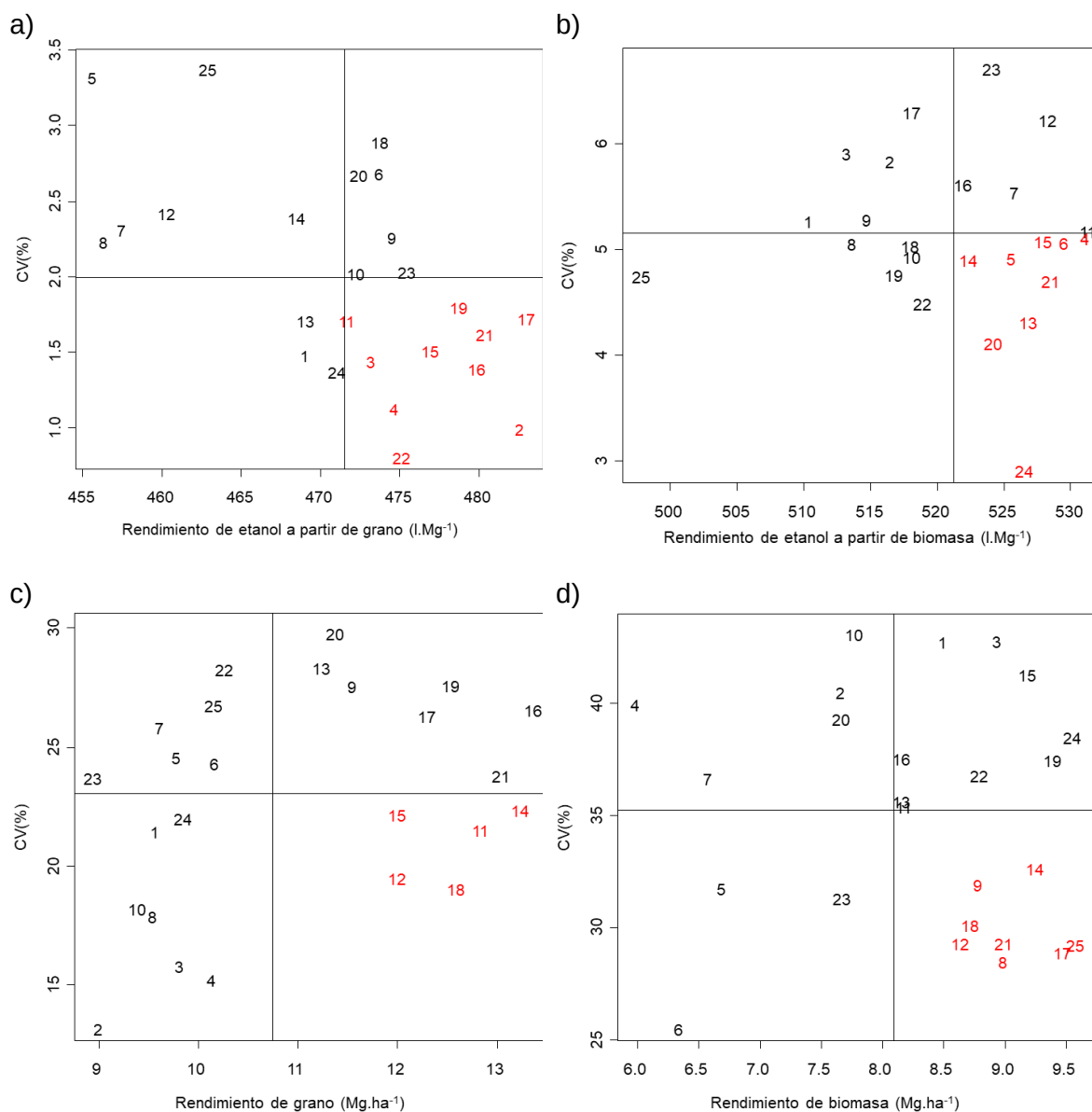
Para rendimiento de etanol a partir de grano (REGN) se identificaron a los genotipos 17 (480 MG) – 21 (507 PW) – 16 (473 MG RR2) - y 19 (510 PW) como los más estables y con los mayores promedios de REGN, a diferencia del genotipo 2 (LP29 x LP2542), que presentó mayor REGN, pero con menor estabilidad. Los genotipos 22 (575 PW) – 9 (LP923 x LP2542) – 3 ((LP923 x LP29) – 6 (LP214 x LP2542) y 10 (LP661 x LP2542) se clasificaron como estables, pero con valores intermedios de REGN. Los genotipos 13 (493 MG RR2) – 25 (Tesai AO INTA) y 5 (LP214 x LP661) fueron los más inestables en los ambientes evaluados para el REGN.

Los genotipos que presentaron mayor estabilidad con un alto RG fueron 16 (473 MG RR2) - 14 (498 MGRR2) - 21 (507 PW) y 17 (480 MG). Los genotipos 11 (470 VT3 Pro) – 18 (512 PW) y 19 (510 PW) presentaron rendimientos similares a los genotipos 21 y 14 pero para RG no mostraron estabilidad a través de los ambientes evaluados.

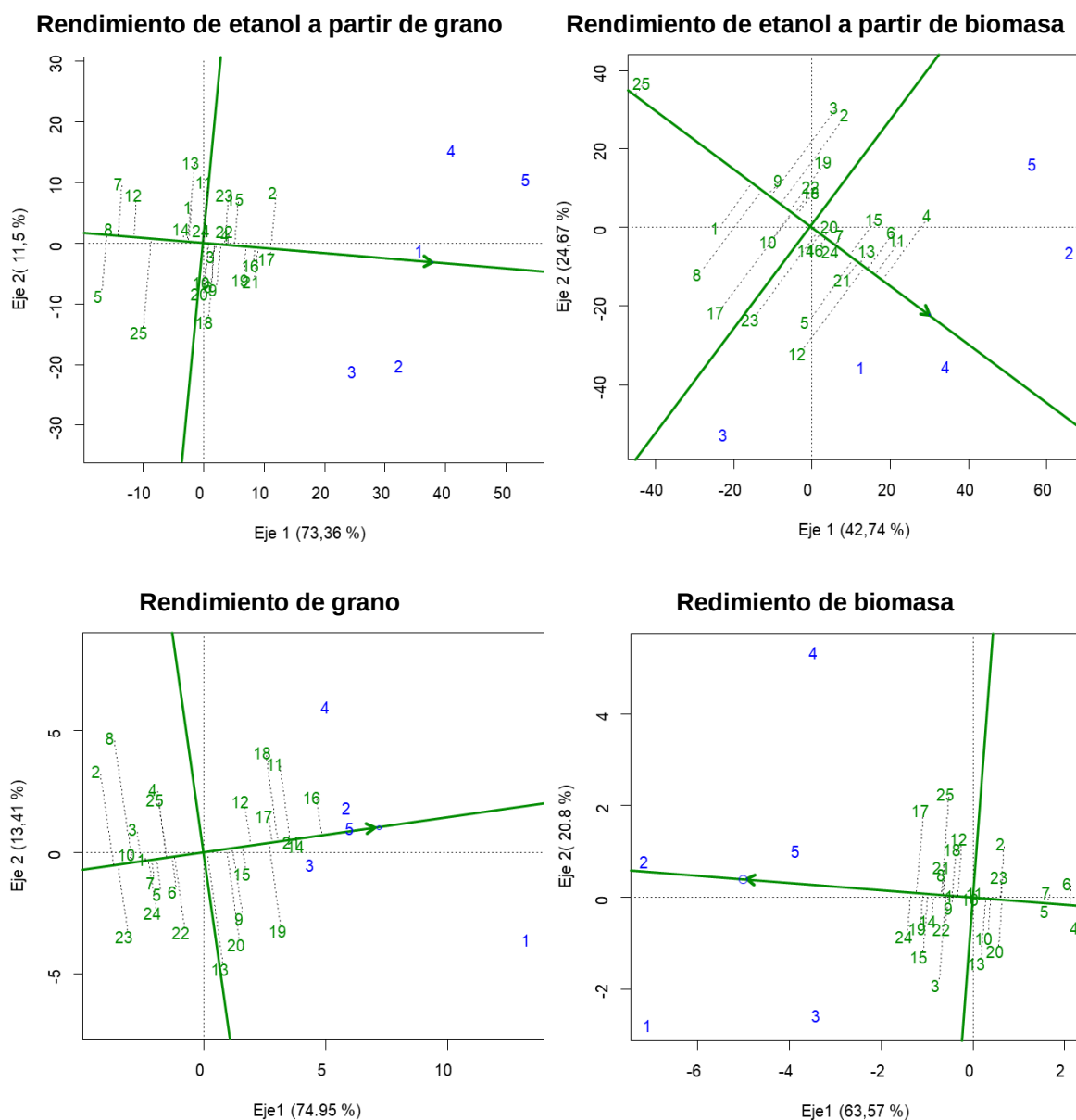
En relación al rendimiento de etanol a partir de biomasa se observó que los híbridos de mayor rendimiento de etanol a partir de biomasa, de mayor a menor, fueron: 4 (LP214 x LP29) - 11 (470 VT3 Pro) - 6 (LP214 x LP2542) - 12 (496 MG) - 13 (493 MGRR2) - 21 (507 PW) - 5 (LP214 x LP661) y 15 (480 RR2). Pero los que mostraron mayor estabilidad a través de los ambientes evaluados fueron los genotipos 11 – 6 – 13 – 21 y 15.

En cuanto al rendimiento de biomasa vegetativa los genotipos con mayor RB fueron 24 (2<sup>a</sup> 120 PW) – 17 (480 MG) – 19 (510 PW) - 15 (480 RR2) - 14 (498 MGRR2) – 8 (LP214 x LP661) – 21 (507 PW) y 25 (Tesai AO INTA), destacándose los genotipos 8 y 14 por ser los más estables dentro de este grupo.

**Figura 1.1.** Análisis de estabilidad biológica para rendimiento de etanol a partir de grano (a) y a partir de biomasa (b), rendimiento de grano (c) y rendimiento de biomasa (d) de 25 híbridos (codificaciones en Tabla 1.1) en cinco ambientes de la zona núcleo distribuidos en dos campañas agrícolas. Las coordenadas de los híbridos que presentaron mayores medias a través de ambientes y con menor dispersión se destacan en color rojo.



**Figura 1.2.** Biplot del modelo GGE para rendimiento de etanol a partir de grano y de biomasa ( $\text{L.Mg}^{-1}$ ) y rendimiento de grano y de biomasa ( $\text{Mg.ha}^{-1}$ ) de 25 híbridos (en verde, codificaciones en Tabla 1.1) en cinco ambientes de la zona núcleo distribuidos en dos campañas agrícolas (en azul: 1- Colón 205-16; 2-Junín 2015-16; 3- Pergamino 2015-16; 4-Junin 2016-17; 5-Pergamino 2016-17).



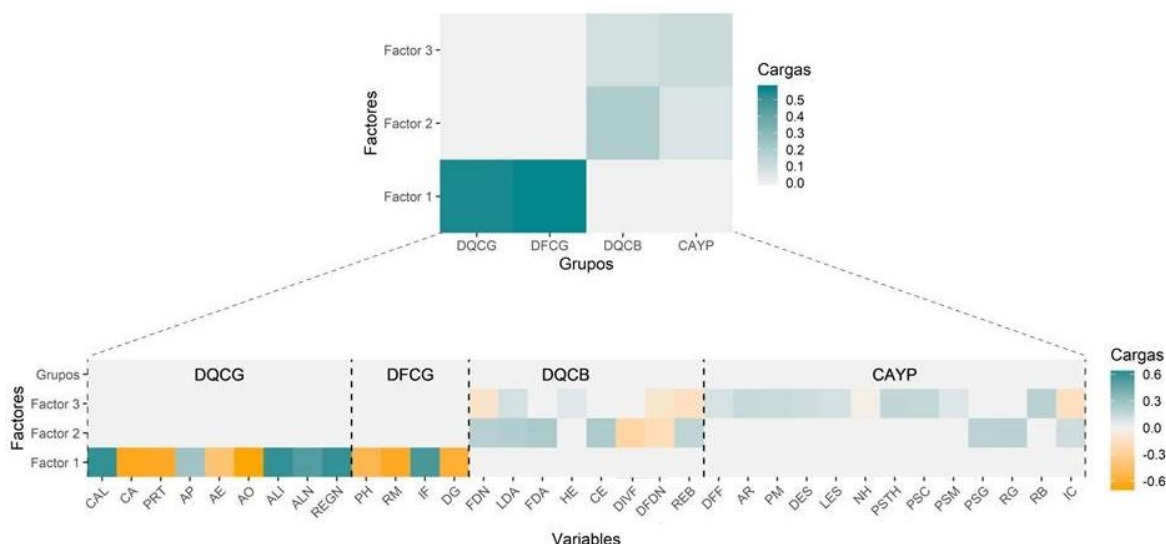
### 3. Análisis factorial en grupos – GFA

En el GFA se obtuvieron  $K = 3$  factores o componentes activos. El test de convergencia de las cadenas de Markov mediante un diagnóstico de Geweke, resultó de 0,0341. La correlación de Mantel entre la matriz original y la matriz reconstruida fue de  $\rho = 0,9997$  con un valor de probabilidad asociado de  $p - valor = 0,001$ .

Se representó la matriz  $W'$  con las cargas de los  $K = 3$  factores activos obtenidos en cada grupo de variables (Figura 1.3) en el eje de las ordenadas. La intensidad del color de los cuadrantes denota la relevancia (carga) del factor en cada grupo de variables. Los cuadrantes oscuros indican la presencia de variables activas de un grupo determinado más asociadas al factor. La escala (0.5-0.0) con las cargas de cada grupo formado *a priori* en el factor se encuentra a la derecha de la Figura 1.3. En el mapa de calor inferior se muestra con mayor detalle las cargas de cada variable de los cuatro grupos de caracteres formados inicialmente: determinaciones de calidad química de los granos (DQCG), determinaciones físicas de calidad de los granos (DFCG), determinaciones químicas de calidad de biomasa (DQCB) y características agronómicas y productivas (CAYP).

El factor activo 1 estuvo representado por los grupos de variables  $X_1$  y  $X_2$  formados por las determinaciones de calidad química (DCQG) y física (DCFG) de los granos respectivamente. El factor 2 estuvo en mayor medida influenciado por el grupo de variables  $X_3$  integrado por determinaciones de calidad química de biomasa (DCQB) y se observó una leve influencia del grupo  $X_4$  correspondiente al conjunto de características agronómicas y productivas (CAYP). El factor 3 presentó una situación inversa respecto al factor 2, ya que respondió fundamentalmente a las variables del grupo  $X_4$  y en menor medida a las del grupo  $X_3$ . En resumen, el factor 1 fue exclusivo de las determinaciones de calidad química y física de los granos, los factores 2 y 3 agruparon variables asociadas a la calidad química de la biomasa y a las características agronómicas y productivas.

**Figura 1.3.** Asociación de los factores latentes a cada grupo de variables expresado a través de sus cargas resultante del análisis de grupo de factores aplicado a 25 híbridos evaluados en cinco ambientes del norte de Buenos Aires en las campañas 2015-16 y 2016-17.



DQCG: determinaciones químicas de calidad del grano (CAL: Concentración de almidón; PRT: Concentración de proteína; CA: Concentración de aceite; AP: Ácido palmítico; AE: Ácido esteárico; AO: Ácido oleico; ALI: Ácido linoleico; ALN: Ácido linolénico; REG: Rendimiento de etanol a partir de grano), DFCG: determinaciones físicas de calidad de grano (PH: Peso hectolítrico; RM: Relación de molienda; IF: Índice de flotación; DG: Densidad de grano), DQCB: determinaciones químicas de calidad de biomasa (FDN: fibra detergente neutro; FDA: fibra detergente ácido; LDA: lignina detergente ácido; CE: celulosa; HE: hemicelulosa; DIVF: digestibilidad in vitro de la fibra; DFDN: digestibilidad de FDN; REB: Rendimiento de etanol a partir de biomasa;) y características agronómicas; (DFF: Días de floración femenina; AR: Altura relativa; PM: peso de 1000 granos; DES: Diámetro de la espiga; LES: Largo de la espiga; NH: Número de hileras; PSTH: Peso seco de tallos y hojas; PSC: Peso seco de chala; PSM: Peso seco de marlo; PSG: Peso seco de grano; RG: Rendimiento de grano; RB: Rendimiento de biomasa; IC: Índice de cosecha).

### 3.1. Caracterización fenotípica multivariada de los genotipos en base al factor 1

La concentración de almidón, los porcentajes de ácidos palmítico, linoleico y linolénico, el rendimiento de etanol a partir de grano y el índice de flotación presentaron pesos positivos en el factor 1, mientras que las concentraciones de aceite, de proteína, los porcentajes de ácidos esteárico y oleico, el peso hectolítrico, la relación de molienda y la densidad presentaron pesos negativos (Figura 1.3).

El primer factor permitió diferenciar a los híbridos respecto a las características del endospermo y del germen y visualizar como estas influyen en la textura del grano (Figura 1.4.a).

Este factor permitió identificar tres grupos de híbridos en relación al rendimiento de etanol a partir de grano (REGN) en alto, medio y bajo rendimiento del mismo. El grupo con mayores rendimientos de etanol a partir de grano ( $474,3 - 481,5 \text{ l.Mg}^{-1}$ ) estuvo constituido por los genotipos 2 (LP29 x LP2542) – 15 (480 RR2) – 16 (473 MG RR2) -17 (480 MG) – 18 (512 PW) – 19 (510 PW) – 20 (505 PW) – 21 (507 PW) - 22 (575 PW) y 23 (BMR 126 Hx).

Para este mismo grupo de genotipos, la composición química del grano se caracterizó por un rango de concentración de almidón (CAL) de  $71,6 - 72,1 \text{ g.100 g}^{-1}$  y concentraciones de proteína (PROT) menores a  $9,0 \text{ g.100.g}^{-1}$ , a excepción de los genotipos 20 - 22 y 23 que presentaron valores superiores a  $9,0 \text{ g.100.g}^{-1}$ . Con respecto a la dureza del grano presentaron peso hectolítrico (PH)  $< 76,0 \text{ kg.h}^{-1}$ , relación de molienda (RM)  $< 3,8$ , índice de flotación (IF)  $> 70\%$  (excepto el genotipo 18 (512 PW)) y densidad de grano (DG)  $\leq 1.2 \text{ g.ml}^{-1}$ . El grano presentó concentración de aceite menores a la media general, con un rango entre  $3,3 - 4,7 \text{ g.100.g}^{-1}$ . Sólo los genotipos 9 (LP923 x LP2542) – 10 (LP661 x LP2542) y 11 (470 VT3 Pro) presentaron valores dentro de estos parámetros y fueron clasificados como pertenecientes a otro grupo. La definición de rangos para la composición acídica fue mas compleja ya que los pesos de las variables en el factor fueron menores (a excepción del ácido linoleico y oleico), pero en líneas generales los genotipos del grupo con mayores REGN mostraron un patrón de concentraciones de ácidos grasos con mayores porcentajes de ácidos palmítico, linoleico y linolénico y menores porcentajes de ácidos esteárico y oleico respecto a la media general.

El grupo de genotipos con menor rendimiento de etanol a partir de grano ( $457,4 \text{ l.Mg}^{-1}$  a  $463,8 \text{ l.Mg}^{-1}$ ) estuvo integrado por los híbridos 1 (LP29 x LP661) – 5 (LP214 LP661) – 7 (LP214 x LP923) - 8 (LP923 x LP661) – 12 (496 MG) – 13 (493 MG RR2) – 14 (480 MG RR2) y 25 (Tesai AO INTA). Estos genotipos presentaron características opuestas al grupo anterior en cuanto a la calidad química y física de los granos. El máximo valor de concentración de almidón (CAL) registrado fue de  $70,1 \text{ g.100.g}^{-1}$  con un mínimo de concentración de proteína (PROT) de  $10,0 \text{ g.100.g}^{-1}$  y un máximo de  $13,7 \text{ g.100.g}^{-1}$ . La concentración de aceite (CA) varió entre  $5,1$  y  $6,6 \text{ g.100.g}^{-1}$ . El perfil acídico de este grupo en comparación con el anterior presentó características inversas: mayores porcentajes de ácidos esteárico y oleico y menores de palmítico, linoleico y linolénico respecto a la media general. La dureza endospermica se caracterizó por pesos hectolítricos (PH)  $> 76,0 \text{ kg.h}^{-1}$  (excepto el genotipo 25 (Tesai AO INTA)), relación de molienda (RM)  $> 4,0$ , índice de



flotación (IF) < 65 % y densidad de grano (DG)  $\geq 1.2 \text{ g.ml}^{-1}$ , denotando una dureza del grano inferior, en términos generales, a la que poseen los híbridos con alto REGN.

El grupo de genotipos con rendimiento de etanol intermedio ( $471,7 - 474,4 \text{ l.Mg}^{-1}$ ) estuvo comprendido por los genotipos 3 (LP923 x LP29) – 4 (LP214 x LP29) – 6 (LP214 x LP2542) – 9 (LP923 x LP2542) – 10 (LP661 x LP2542) - 11 (470 VT3 Pro) y 24 (2A 120 PW). Estos híbridos presentaron características intermedias de calidad química y física de los granos con respecto a las mencionadas para los materiales clasificados como de mayor y de menor rendimiento de etanol a partir de grano.

### 3.2. Caracterización fenotípica multivariada de los genotipos en base al factor 2

El segundo factor se caracterizó por representar principalmente a los caracteres relacionados con la calidad química de la biomasa (DCQB) y, en menor medida, características agronómicas y productivas (CAYP) como el peso seco de grano (PSG), rendimiento de grano (RG) e índice de cosecha (IC) (Figura 1.3). De tal modo este factor permitió diferenciar a los genotipos respecto a sus características químicas de calidad de biomasa (excepto hemicelulosa), rendimiento de grano e índice de cosecha.

Las concentraciones de fibra detergente neutro (FDN), lignina detergente ácido (LDA), fibra detergente ácido (FDA), celulosa (CE) y el rendimiento de etanol a partir de biomasa (REB) presentaron cargas positivas en el factor 2 en conjunto con las variables peso seco de grano (PSG), rendimiento de grano (RG) e índice de cosecha (IC). Por el contrario, la digestibilidad *in vitro* de la fibra (DIVF) y la digestibilidad de la fibra detergente neutro (DFDN) presentaron cargas negativas en este segundo factor.

Se observaron dos subgrupos de genotipos con mayor REB. El primero formado por los híbridos 12 (496 MG) – 14 (498 MG RR2) - 15 (480 RR2) – 21 (507 PW) y 24 (2 A 120 PW) y el segundo subgrupo por los híbridos 4 (LP214 x LP29) - 6 (LP214 x LP2542) – 11 (470 VT3 Pro) – 13 (493 MG RR2) – 16 (473 MG RR2) - 17 (480 MG) – 18 (512 PW) y 20 (505 PW) (Figura 1.4 b). La diferencia entre estos subgrupos radicó en las variables DIVF, DFDN y RG, siendo el primer subgrupo el que exhibió menores digestibilidades y mayor rendimiento de grano e índice de cosecha, por consiguiente derivando en un menor rendimiento de biomasa. Considerando ambos subgrupos, el rango de REB fue  $519,7 - 526,1 \text{ l.Mg}^{-1}$  con concentraciones de FDN  $> 80 \text{ g.100.g}^{-1}$  y FDA  $> 42,7 \text{ g.100.g}^{-1}$ . Las

menores concentraciones de celulosa y de hemicelulosa en estos subgrupos fueron 35,2 g.100.g<sup>-1</sup> y 36,2 g.100.g<sup>-1</sup>, respectivamente.

### 3.3. Caracterización fenotípica multivariada de los genotipos en base al factor 3

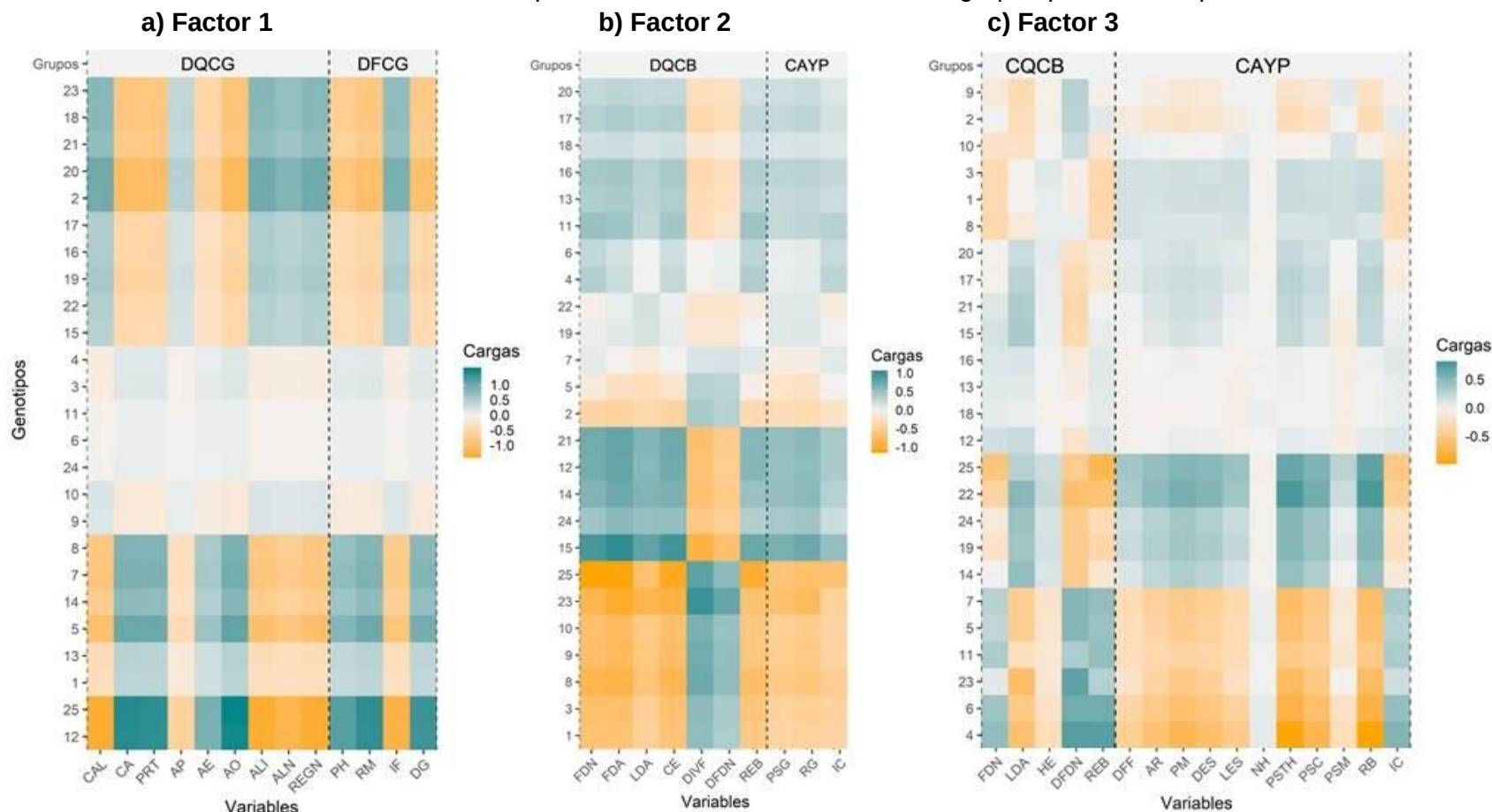
El factor 3 se conformó con las variables que describen características agronómicas y productivas, con la excepción del peso seco de grano y rendimiento de grano (que formaron parte del factor 2), y de algunas variables asociadas a la calidad química de biomasa.

El factor 3 reflejó la relación entre el rendimiento de grano (RG) y la biomasa producida (RB) a través del índice de cosecha (IC), características de la espiga y otras asociadas como por ejemplo la producción de distintas fracciones vegetativas, además de una leve incidencia de caracteres de calidad química de biomasa como la concentración de hemicelulosa (HE) (ausente en el factor 2), fibra detergente neutro (FDN), lignina detergente ácido (LDA), digestibilidad *in vitro* de la fibra (DIVF) y rendimiento de etanol a partir de biomasa (REB).

Las variables con cargas negativas en el factor 3 fueron el número de hileras de granos (NHG), el índice de cosecha (IC), fibra detergente ácido (FDA), digestibilidad de la fibra detergente neutro (DFDN) y rendimiento de etanol a partir de biomasa (REB), a diferencia de días desde siembra a floración femenina (DFF), altura relativa (AR), peso de mil granos (PM), diámetro de la espiga (DES), longitud de la espiga (LES), peso seco de tallo y hojas (PSTH), peso seco de chala (PSC), peso seco de marlo (PSM) y rendimiento de biomasa (REB) que presentaron cargas positivas.

Los genotipos 4 (LP214 x LP29) – 5 (LP214 x LP661) – 6 (LP214 x LP2542) – 7 (LP214 x LP923) – 11 (470 VT3 Pro) y 23 (BMR 126 Hx) presentaron rendimientos de etanol a partir de biomasa (REB) entre 523,34 y 526,1 l.Mg<sup>-1</sup>, altos promedios de digestibilidad *in vitro* de la fibra (DIVF) y digestibilidad de la fibra detergente neutro (DFDN) y menores concentraciones de lignina (LDA) respecto a la media general. Este grupo de híbridos presentaron rendimientos de biomasa < 7,5 Mg.ha<sup>-1</sup> (Figura 1.3.c) e índices de cosecha elevados a pesar de sus rendimientos de grano inferiores al promedio (11,0 Mg.ha<sup>-1</sup>).

**Figura 1.4.** Agrupamiento de 25 híbridos evaluados en cinco ambientes del norte de la provincia de Buenos Aires distribuidos en dos campañas agrícolas de acuerdo al análisis de cluster jerárquico a partir de las cargas de cada carácter en cada uno de los  $k=3$  factores obtenidos en la caracterización fenotípica mediante el análisis factorial en grupo aplicado a los predictores BLUPs.



DQCG: determinaciones químicas de calidad del grano (CAL: Concentración de almidón; PRT: Concentración de proteína; CA: Concentración de aceite; AP: Ácido palmítico; AE: Ácido esteárico; AO: Ácido oleico; ALI: Ácido linoleico; ALN: Ácido linolénico; REG: Rendimiento de etanol a partir de grano), DFCG: determinaciones físicas de calidad de grano (PH: Peso hectolítrico; RM: Relación de molienda; IF: Índice de flotación; DG: Densidad de grano), DQCB: determinaciones químicas de calidad de biomasa (FDN: fibra detergente neutro; FDA: fibra detergente ácido; LDA: lignina detergente ácido; CE: celulosa; HE: hemicelulosa; DIVF: digestibilidad *in vitro* de la fibra; DFDN: digestibilidad de FDN; REB: Rendimiento de etanol a partir de biomasa;) y CAYP: características agronómicas; (DFF: Días de floración femenina; AR: Altura relativa; PM: peso de 1000 granos; DES: Diámetro de la espiga; LES: Longitud de la espiga; NH: Número de hileras; PSTH: Peso seco de tallos y hojas; PSC: Peso seco de chala; PSM: Peso seco de marlo; PSG: Peso seco de grano; RG: Rendimiento de grano; RB: Rendimiento de biomasa; IC: Índice de cosecha)

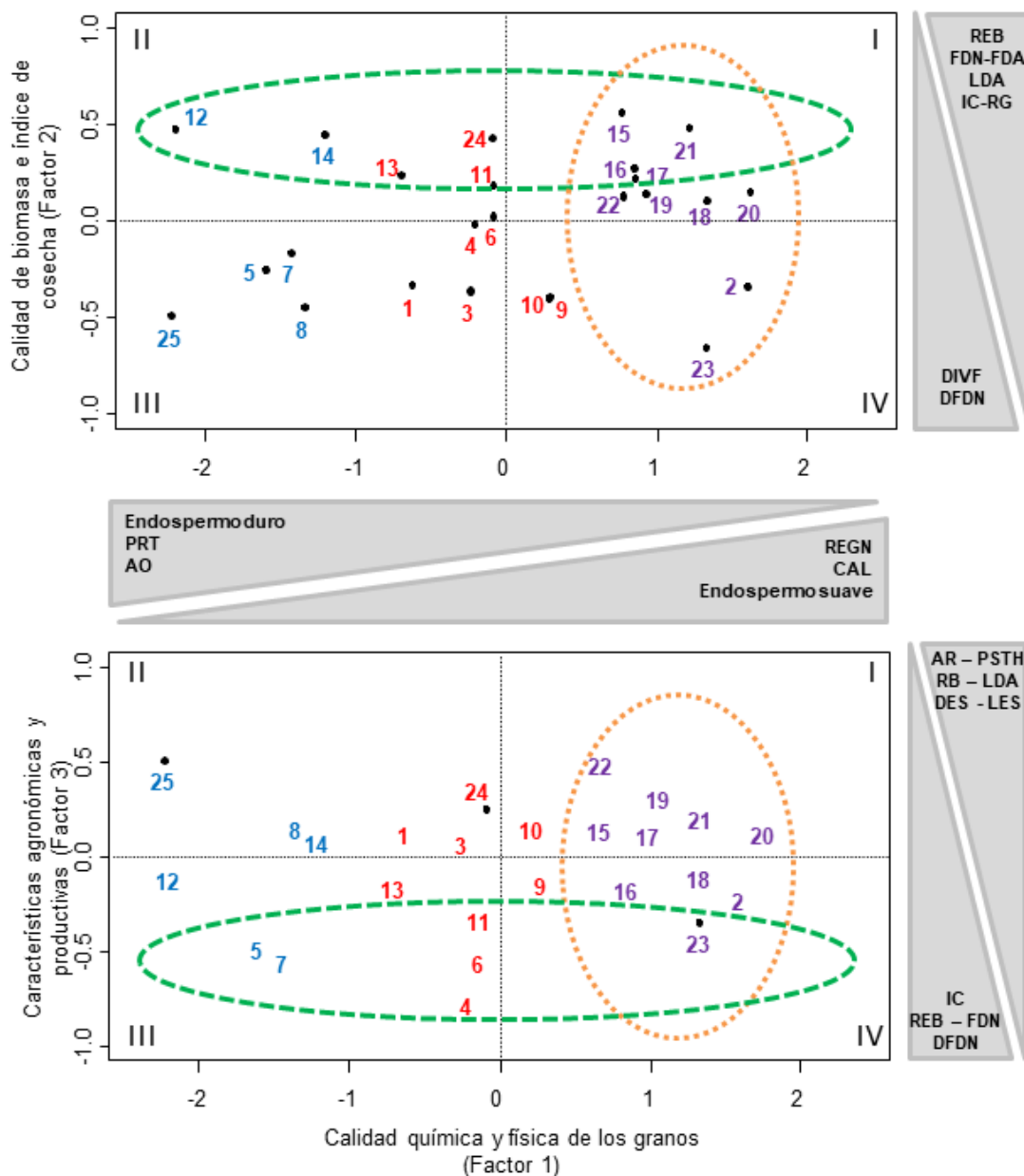
### 3.4. Análisis de agrupamiento de genotipos basado en la matriz de factores latentes

Mediante las coordenadas de los genotipos en cada factor de la Matriz Z, se graficaron en conjunto los factores 1 y 2 y los factores 1 y 3 (Figura 1.5). De esta forma se logró caracterizar en cuanto a atributos asociados a DQCB y CAYP a los genotipos contrastantes para los atributos de DQCG y DFCG. Los *biplot* reflejaron los grupos de genotipos que responden a las asociaciones de la dureza de grano con la concentración de almidón (CAL) y proteínas (PTR) presentadas en la Figura 1.4.a. En violeta se identificaron los genotipos con endospermos de tipo suave, alta concentración de almidón, baja concentración de proteína y aceite, con mayor proporción de ácido palmítico, linoléico y linolénico. En azul genotipos con endospermos de tipo duro, baja concentración de almidón, alta concentración de proteína y aceite, con mayor proporción de ácido esteárico y oleico. En rojo genotipos con características intermedias para calidad de grano y propiedades físicas. A su vez, se agruparon con una línea punteada en naranja y verde los genotipos con alto rendimiento de etanol a partir de grano (REGN) y a partir de biomasa (REB) respectivamente.

Entre los genotipos evaluados (Figura 1.5), los que presentaron granos de tipo suave con mayor concentración de almidón y mayor rendimiento de etanol a partir de grano se situaron en los cuadrantes I y IV (2 (LP29 x LP2542) – 15 (480 RR2) – 16 (473 MG RR2) – 17 (480 MG) – 18 (512 PW) – 19 (510 PW) – 20 (505 PW) – 21 (507 PW) – 22 (575 PW) y 23 (BMR 126 Hx)). En oposición, los híbridos con grano más duro se encuentran en los cuadrantes II y III (5 (LP214 x LP661) – 7 (LP214 x LP923) – 8 (LP923 x LP661) – 12 (496 MG) – 14 (498 MG RR2) y 25 (Tesai AO INTA)). A su vez, los genotipos situados en la parte superior del cuadrante I (15 (480 RR2) y 21 (507 PW)) y los ubicados en la parte superior del cuadrante II (12 (496 MG) y 14 (498 MG RR2)) presentaron valores mayores de fibra detergente neutro (FDN) y ácido (FDA), lignina detergente ácido (LDA), celulosa (CE), rendimiento de grano (RG), peso seco de grano (PSG) e índice de cosecha (IC) y valores menores de digestibilidad *in vitro* de la fibra (DIFV) y digestibilidad de fibra detergente neutro (DFDN). Los genotipos 1 (LP29 x LP661) – 3 (LP923 x LP29) – 8 (LP923 x LP661) – 9 (LP923 x LP2542) – 10 (LP661 x LP2542) – 23 (BMR 126 Hx) y 25 (Tesai AO INTA), situados en los cuadrantes III y IV presentaron características opuestas en cuanto a calidad de biomasa con respecto a los ubicados en los cuadrantes I y II previamente nombrados. Los híbridos más apropiados para la producción de etanol a partir de grano son los ubicados en los cuadrantes I y IV, pero de ellos los situados en el cuadrante I presentaron mayores

rendimientos de grano por hectárea que los situados en el IV. Para producción de etanol a partir de biomasa, los genotipos más convenientes son los ubicados en el cuadrante I (15 (480 RR2) y 21 (507 PW)) y II (12 (496 MG) – 14 (498 MG RR2) y 24 (2A 120 PW)). Los genotipos 4 (LP214 x LP29) – 5 (LP214 x LP661) – 6 (LP214 x LP2542) – 7 (LP214 x LP923) – 11 (470 VT3Pro) y 23 (BMR 126 Hx) se caracterizaron por tener los mayores índices de cosecha (IC) y los menores promedios para tamaño de la espiga (LES, DES), altura relativa (AR) y pesos secos de las fracciones vegetativas. Si bien estos genotipos son clasificados por el factor 3 como híbridos de mayor rendimiento de etanol a partir de biomasa, rindieron menos que los híbridos mencionados como los más convenientes (15 – 21 – 12 – 14 – 24). Esto se debe a que la carga del factor 2 en la variable REB es mayor que la aplicada por el factor 3, teniendo este último mayor incidencia en la caracterización de las CAYP (Figura 1.5).

**Figura 1.5.** Caracterización fenotípica de 25 genotipos evaluados en cinco ambientes del norte de la provincia de Buenos Aires distribuidos en dos campañas agrícolas mediante *biplots* de las cargas de los genotipos para cada factor (factor 1 vs. factor 2, factor 1 vs. factor 3) obtenidas en el análisis factorial en grupo realizado a partir de los correspondientes predictores BLUPs.



Los genotipos se agruparon en alto REB (verde) y alto REGN (anaranjado). Se muestran barras en gris indicando los gradientes para las variables: CAL: concentración de almidón, PRT: concentración de proteína; AO: ácido oléico; REGN: rendimiento de etanol a partir de grano; FDN: fibra detergente neutro; FDA: fibra detergente ácido; LDA: lignina detergente ácido; CE: celulosa; DIVF: digestibilidad *in vitro* de la fibra; DFDN: digestibilidad de FDN; REB: Rendimiento de etanol a partir de biomasa; AR: Altura relativa; DES: Diámetro de la espiga; LES: Longitud de la espiga; PSTH: Peso seco de tallos y hojas; PSC: Peso seco de chala; RG: Rendimiento de grano; RB: Rendimiento de biomasa; IC: Índice de cosecha.

## Discusión

El objetivo del presente capítulo fue evaluar el rendimiento de etanol a partir de grano y de biomasa de híbridos experimentales del programa de mejoramiento de maíz de INTA e híbridos comerciales en cinco ambientes del Noroeste de Buenos Aires y estudiar su relación con las características de calidad química y física de los granos, calidad química de la biomasa y características agronómicas y productivas

La composición química promedio del grano descripta es semejante a la reportada en la bibliografía tanto para las concentraciones de almidón, proteína y aceite (Hallauer, 2001; Orhun 2013) como para el perfil de ácidos grasos (Eyhérabide *et al.*, 2005).

El promedio de rendimiento de biomasa total fue  $8,3 \pm 0,8 \text{ Mg.ha}^{-1}$ , valor semejante a los encontrados por Karlen *et al.* (2015) y consistente con los informados por Gould (2007) donde el rendimiento del rastrojo de cosecha de maíz oscilaba entre 7,4 y 11,2  $\text{Mg.ha}^{-1}$  para cultivos con promedios de rendimiento de grano entre 6,2 y 9,4  $\text{Mg.ha}^{-1}$  (DeJong *et al.*, 2009). No obstante, en este estudio los promedios de rendimientos de grano estuvieron comprendidos entre 9,1 y 12,8  $\text{Mg ha}^{-1}$  con una media de  $11 \pm 1 \text{ Mg.ha}^{-1}$ .

La distribución de la materia seca entre las distintas fracciones vegetativas resultó similar a la obtenida por Pordesimo *et al.* (2005) quienes reportaron 45,9 % de peso seco de grano (PSG); 38,9 % de peso seco de tallo y hojas (PSTH); 7,0 % de peso seco de chala (PSC) y 8,2 % de peso seco de marlo (PSM). La relación entre peso seco de marlo y peso seco de tallos y hojas ( $\text{PSM/PSTH} = 0,21$ ) y peso seco de marlo y rendimiento de grano ( $\text{PSM/RG} = 0,13$ ) fueron semejantes a las encontradas por Halvorson *et al.* (2009) (0,14 y 0,16 respectivamente). El peso promedio del marlo representa el 16 % de la biomasa aérea total (sin considerar el grano), un 4,0 % menor a lo obtenido por Birrel *et al.* (2014). Los índices de cosecha presentados se encuentran dentro de los rangos típicos informados para maíz (Prihar *et al.*, 1990; Karlen *et al.*, 2015).

Se identificaron grupos de genotipos que reflejan las asociaciones de la dureza del grano con las concentraciones de almidón y de proteína previamente informadas por Duvick (1961) y Dombrink-Kurtzman y Bietz (1993).

Naidu *et al.* (2007) demostraron que el rendimiento de bioetanol aumentaba a medida que decrecía el tamaño de la partícula molida por lo que granos con tendencia a poseer endospermo harinoso o suave serían los más promisorios para la producción de bioetanol.

Por este motivo, el grado de dureza del grano debería ser especialmente tenido en cuenta en la elección de genotipos más aptos para la producción de etanol a partir de grano. La aplicación de las clasificaciones de dureza de grano propuestas por distintos autores a los híbridos evaluados en este estudio (en el caso de Eyhéabide *et al.*, 1996 se aplicó de forma parcial sin considerar todas las variables de la función discriminante), dieron resultados inconsistentes entre sí ya que los agrupamientos obtenidos no fueron similares para todos los parámetros de dureza estudiados. Sería interesante la realización de un muestreo más exhaustivo de los diferentes híbridos actualmente sembrados en Argentina con el objetivo de actualizar una función discriminante, similar a la realizada por Eyhéabide *et al.* (1996), para establecer los criterios de clasificación con las metodologías empleadas en la actualidad.

A partir del análisis de GFA se generaron agrupamientos de genotipos según el rendimiento de etanol a partir del grano y de la biomasa en función de la evaluación fenotípica multivariada de los caracteres evaluados. Los resultados del GFA permitieron identificar los parámetros más relevantes a considerar en la elección de un cultivar o grano para la industria en cuanto a la calidad física y química de los granos. Cabe destacar que las determinaciones para evaluar la calidad física de los granos implican el uso de técnicas simples de efectuar, rápidas y económicas.

La verosimilitud en la agrupación de genotipos obtenida en el GFA se verificó por el conocimiento previo de los híbridos 25 y 23 cuyas características especiales previamente conocidas sirvieron como caracteres “testigo” para validar los resultados obtenidos. El genotipo 25 corresponde al híbrido Tesai AO INTA, inscripto como cultivar en el INASE, y caracterizado por su alta concentración de ácido oleico. Este genotipo se destacó en el factor 1 (Figura 1.4.a) debido a su particular perfil de ácidos grasos con alto porcentaje promedio de ácido oleico,  $53,1 \text{ g.100.g}^{-1}$ , superior a la media general (Tabla 1.2). El genotipo 23 corresponde al híbrido BMR 126 Hx portador homocigota de la mutación *bmr3* (*brown midrib - nervadura marrón*) el cual tiene inhibida una de las vías de síntesis de lignina, por lo que le confiere baja concentración de este biopolímero. En el factor 2 se pudo observar claramente que presenta el menor concentración de lignina detergente ácido (LDA), Figura 1.4.b. Su BLUP promedio a través de ambientes para la concentración de lignina fue de  $6,8 \text{ g.100.g}^{-1}$ , valor inferior a la media general (Tabla 1.4).

Las importantes asociaciones halladas entre las características químicas de calidad de grano podrían atribuirse a una correlación genética entre ellas resultante de relación



pleiotrópica entre los atributos evaluados como las previamente informadas tanto para aceite, almidón y proteína (Cook *et al.*, 2012; Guo *et al.*, 2013; Zhang *et al.*, 2015) como para almidón y proteína (Goldman *et al.*, 1993). Por lo tanto, estas características estarían correlacionadas tanto fenotípica como genéticamente en germoplasma con distinto fondo genético. A su vez, resultó interesante identificar asociaciones entre los ácidos grasos y el rendimiento de etanol. Se conoce que múltiples QTLs se encuentran implicados en la síntesis y composición de ácidos grasos en maíz (Laurie *et al.*, 2004; Delucchi *et al.*, 2019). Mediante un estudio de GWAS (Estudio de asociación de genoma completo del inglés *Genome Wide Association Studies*), Cook *et al.* (2012) detectaron numerosas asociaciones entre el contenido de aceite y el contenido de almidón, entre ellas identificaron un gen que codifica para acil-CoA:diacilglicerol aciltransferasa (DGAT1-2) que regula el contenido de aceite y su composición. Este gen fue hallado previamente por Zheng *et al.* (2008) a partir de un QTL en el cromosoma 6 como un gen que interviene en el contenido de aceite y de ácido oleico en el grano de maíz y en poblaciones de maíces con otro fondo genético, similar al empleado en este estudio (Delucchi *et al.*, 2019). Estos resultados indican la probable relación pleiotrópica entre el perfil de ácidos grasos y el almidón, y que la asociación hallada en este estudio con respecto a la concentración de ácido oleico y linoleico con el rendimiento de etanol en el GFA podría deberse a una contribución indirecta a la correlación total mediada por la concentración de almidón.

Otra posible explicación de la asociación del rendimiento de etanol con un determinado perfil de ácidos grasos, podría ser un efecto directo de ciertos ácidos grasos en la reacción de fermentación. La actividad de la levadura puede ser inhibida por concentraciones altas de etanol o la carencia de ciertos nutrientes que ayudan a la levadura a aumentar su resistencia, afectando a la membrana celular lo que provoca una alteración del flujo de electrones incrementando su permeabilidad (Boulton *et al.*, 1996; Walker, 1998). En la reacción de fermentación de maíz, el germen funciona como una fuente vital de nutrientes necesarios para el crecimiento de la levadura. Los lípidos contenidos en el germen y la capa de aleurona intervienen en mantener la integridad de la membrana de levadura bajo condiciones de estrés, como lo es una alta concentración de etanol (Kumar y Singh, 2019). Se ha reportado que la adición de ácido palmitoleico, así como la de linoleico y linolénico durante la fermentación para la producción de tequila 100% agave disminuyen la inhibición del etanol, aumentando su producción sustancialmente (Castillo-Castillo *et al.*, 2007). Por lo que mayores concentraciones de ácidos linoleico y linolénico en el medio podrían actuar como co-factores naturales presentes en la materia prima e interferir en algún cambio de

ácidos grasos de la membrana celular de la levadura disminuyendo la inhibición de su actividad generada por etanol.

Los trabajos revisados que abordan la dureza del grano, se enfocan en la concentración de almidón, la morfología de sus gránulos, en la concentración de proteína y los tipos de zeinas intervinientes (Gibbon y Larkins, 2005; Pereira *et al.*, 2008; Zhang *et al.*, 2011; Gayral *et al.*, 2016), pero no existen reportes de trabajos que relacionen directamente la dureza del endospermo con el perfil de ácidos grasos.

Entre el grupo de caracteres estudiados en relación a la calidad química de la biomasa se encuentran lignina detergente ácido (LDA), digestibilidad *in vitro* de la fibra (IVF), y digestibilidad de la fibra detergente neutro (DFDN) como variables asociadas a la digestibilidad y fibra detergente neutro (FDN), fibra detergente ácido (FDA), celulosa (CE) y hemicelulosa (HE) como variables asociadas a la concentración de carbohidratos estructurales.

En el presente trabajo se agruparon híbridos según el rendimiento de etanol a partir de biomasa (alto o bajo) y se identificaron genotipos con alto REB debido a sus altas concentraciones de carbohidratos estructurales y que otros respondían al alto REB como consecuencia de su elevada digestibilidad.

Los genotipos 12 (496 MG), 4 (498 MG RR2), 15 (480 RR2), 21 (507 PW) y 24 (2A 120 PW) fueron aquellos que presentaron concentraciones de polisacáridos estructurales superiores a la media general, y mostraron una digestibilidad inferior al promedio. Los genotipos 4 (LP214 x LP29), 6 (LP214 x LP2542), 11 (470 VT3 Pro), 13 (493 MG RR2), 16 (473 MG RR2), 17 (480 MG), 18 (512 PW) y 20 (505 PW) se caracterizaron por poseer una menor concentración de carbohidratos estructurales y una digestibilidad mayor. Ambos grupos de genotipos presentaron REB similares.

En base a lo expuesto, se desprenden dos estrategias de obtención de altos rendimientos de etanol a partir de la utilización de la biomasa vegetativa de maíz: la del primer grupo basado en una mayor concentración de carbohidratos estructurales y la del segundo grupo basado en una mayor digestibilidad de la fibra.

## Conclusiones

Los materiales evaluados presentaron variabilidad genotípica para todas las características estudiadas. Se evidenció la existencia de interacciones genotipo por ambiente estadísticamente significativas tanto para rendimiento de etanol a partir de grano y de biomasa como del rendimiento de grano y de biomasa. Se identificaron híbridos estables a través de los ambientes evaluados y buen comportamiento para el rendimiento de etanol a partir de grano y de biomasa.

El análisis de GFA permitió disponer de una caracterización fenotípica integral de los híbridos estudiados, en cuanto a la calidad y dureza de grano, calidad de la biomasa y características agronómicas, que permitieron definir cuáles de ellas y con qué niveles de expresión caracterizarían un ideotipo especialmente apto para la industria de bioetanol. Asimismo, pudieron identificarse los híbridos más promisorios para este uso final.

Los híbridos con mayor rendimiento de etanol a partir de grano y de biomasa presentaron características distintivas de calidad a nivel fenotípico. Se evidenció que los genotipos con rendimiento de etanol a partir de grano mayor a  $470 \text{ l.Mg}^{-1}$ , presentaron una composición química del grano con un mínimo de concentración de almidón de  $71,5 \text{ g.100 g}^{-1}$ , concentración de proteína menores a  $9,0 \text{ g.100.g}^{-1}$ , concentración de aceite menor a  $4,7 \text{ g.100.g}^{-1}$ , un perfil de ácidos grasos con mayores porcentajes de ácido linoleico y menores porcentajes de ácidos palmítico y oleico. La textura del endospermo fue de tipo suave o harinosa con un peso hectolítrico menor a  $76,0 \text{ kg.hl}^{-1}$ , relación de molienda menor a 3,8, índice de flotación mayor a 70% y densidad de grano menor a  $1.2 \text{ g.ml}^{-1}$ . A su vez, los genotipos con rendimiento de etanol a partir de biomasa mayor a  $519,7 \text{ l.Mg}^{-1}$ , presentaron una composición química de la biomasa con una concentración de FDN mayor a  $80 \text{ g.100.g}^{-1}$  y FDA mayor a  $42,7 \text{ g.100.g}^{-1}$ .

Estos resultados permitieron identificar caracteres adecuados para la selección de genotipos con destino de producción de bioetanol de primera y segunda generación evidenciando la existencia de características composicionales del grano y de órganos celulósicos que inciden en la producción de bioetanol de primera y segunda generación respectivamente, para las cuales se halló variabilidad fenotípica y genotípica disponible que podría ser explotada en el desarrollo de cultivares específicamente destinados para la industria de bioetanol a partir de maíz..

## **CAPITULO II**

**ASOCIACIÓN ENTRE EL RENDIMIENTO DE BIOETANOL DE  
PRIMERA Y SEGUNDA GENERACIÓN CON CARACTERES DE  
CALIDAD, AGRONÓMICOS Y PRODUCTIVOS.**

## Introducción

Las características de calidad del grano y de la biomasa confieren a los cultivares de ciertos atributos, definiéndose su destino final en la cadena de valor en función de tales características (Dey *et al.*, 1997; Mc Donald *et al.*, 1999; Savani y Sorlino, 2004; Robutti, 2012). La aptitud del maíz para sus distintos usos industriales está determinada principalmente por la estructura física y la composición química del grano y de la biomasa.

En la actualidad no se dispone de cultivares específicamente desarrollados para la producción de biocombustibles. Los granos de maíz empleados como materia prima en la industria de biocombustibles líquidos son obtenidos a partir de cultivares híbridos que han sido seleccionados por su alto rendimiento y tolerancia a factores de estrés. Una situación similar ocurre en la industria de biocombustibles de segunda generación donde el material vegetal empleado se selecciona en función de la disponibilidad y el bajo costo.

En líneas generales se conoce que en la producción de etanol de primera generación la glucosa es el principal sustrato del proceso de fermentación. Estas moléculas son obtenidas a partir de la hidrólisis del almidón y su posterior sacarificación. Previamente a la hidrólisis, el almidón debe ser gelatinizado por lo que es importante tener en consideración tanto la energía que debe utilizarse a ese fin como la formación de almidones retrogradados que resultan resistentes a la digestión enzimática. Estos factores pueden ocasionar un aumento en el costo de producción y disminución del rendimiento final de etanol (Yangcheng *et al.*, 2013). En relación a ello resulta de interés abordar las posibles relaciones del rendimiento de etanol a partir de grano con las propiedades térmicas del almidón e identificar la existencia o no de algún patrón característico de asociación entre ellos.

En el primer capítulo se estableció que, según fuera el rendimiento de etanol de primera o de segunda generación (a partir de grano y de biomasa respectivamente), los genotipos presentaban un patrón característico para el resto de las variables o caracteres estudiados. Para ello se adoptó un enfoque bayesiano en el cual no se disponía de información de las propiedades térmicas del almidón para todo el germoplasma evaluado. Sin embargo, las asociaciones entre los caracteres también pueden ser cuantificadas y evaluadas por medio del análisis clásico de correlación, obteniendo información valiosa para un programa de mejoramiento.

La correlación fenotípica entre caracteres puede estar determinada por causas ambientales (correlación ambiental) y genéticas (correlación genética), con diferentes niveles de contribuciones relativas (Mariotti y Collavino, 2014).

La correlación ambiental  $\rho(xy)_e$  entre dos o más caracteres surge cuando las condiciones ambientales tienden a afectar la expresión de ambos caracteres de similar manera, ya sea positiva o negativamente. Las causas de la correlación genotípica  $\rho(xy)_G$  pueden estar dadas por el ligamiento entre genes, que provoca una asociación transitoria entre los caracteres y por la pleiotropía, cuando un mismo grupo de genes influyen sobre dos o más caracteres simultáneamente, generando una asociación permanente entre ellos (Falconer y Mackay, 1996). En la teoría de índices de selección y en general en programas de selección simultánea para más de un carácter en una población de referencia, el componente de la correlación fenotípica que interesa es la correlación genética, o correlación entre los valores de mejora de los individuos para los caracteres de interés. Las correlaciones entre desvíos de dominancia o entre los valores de mejora para un carácter con los desvíos de dominancia para otros no contribuyen a las respuestas correlacionadas a la selección, y entonces se consideran partes integrantes de la correlación ambiental. En este trabajo nos referiremos a la correlación genotípica cuando se tengan en cuenta para su estimación a las covariancias y desvíos estándar genotípicos y a la correlación genética o aditiva cuando para su estimación sólo se consideren las covariancias y desvíos estándar de tipo aditivos.

Los componentes causales de la correlación fenotípica entre dos caracteres métricos,  $\rho(xy)_F$ , están dados por (Falconer y Mackay, 1996; Mariotti y Collavino, 2014):

*Correlación fenotípica = Componente genético + Componente ambiental*

$$\begin{aligned} Cov(xy)_F &= Cov(xy)_G + Cov(xy)_e \\ \rho(xy)_F &= \rho(xy)_G * h_x * h_y + \rho(xy)_e * e_x * e_y \end{aligned}$$

Siendo,  $h_x * h_y$  el producto de las raíces cuadradas de la heredabilidad ( $h^2$ ) de cada carácter,  $x$  e  $y$ , y  $e_x * e_y$  el producto de las raíces cuadradas de las “ambientabilidades” ( $e^2 = 1 - h^2$ ).

Esta ecuación pone en evidencia que la correlación fenotípica no solamente incluye la suma de las correlaciones genética y ambiental, sino que cada sumando está ponderado por los respectivos componentes asociados a la heredabilidad ( $h^2$ ) y a su complemento ( $1 - h^2$ ).

Para el mejoramiento es importante obtener una estimación del grado de asociación entre los caracteres de importancia, debido a que la selección artificial para un carácter no es necesariamente neutra sobre otros si existe correlación genética y por su naturaleza heredable puede ser empleada para orientar las estrategias selectivas de los programas de mejoramiento (Falconer y Mackay, 1996; Mariotti y Collavino, 2014; Hallauer *et al.*, 2010). Por lo que en programas de desarrollo de híbridos de maíz es importante conocer la magnitud de la correlación genética entre los caracteres estudiados y el valor promedio de sus líneas parentales. Debido a que si existe correlación genética puede reducirse la cantidad de híbridos a evaluar, emplear en la selección información de las líneas endocriadas, y con ello predecir el comportamiento promedio de la progenie (Betran y otros, 2003). Contrariamente, si la asociación entre el comportamiento de líneas parentales y sus híbridos presentara escaso valor predictivo, como ocurre con el rendimiento de grano, sería necesario en la evaluación emplear un número mayor de combinaciones híbridas.

En este capítulo se presenta: 1) el estudio de las relaciones existentes entre el rendimiento de etanol con caracteres de calidad y agronómicos-productivos; 2) la descripción de las características funcionales del almidón por sus propiedades térmicas y su relación con el rendimiento de etanol a partir de grano en híbridos de maíz del programa de mejoramiento de INTA – EEA Pergamino.

## Materiales y métodos

Para los caracteres evaluados y detallados en la sección Materiales y métodos generales se estimaron las correlaciones fenotípicas [1] con R versión 3.5.1 (R Core Team, 2018) y genotípicas [2] con el programa META-R versión 6.0 (Alvarado *et al.*, 2016) a partir de la información fenotípica de los híbridos experimentales producto del cruzamiento dialélico entre las líneas estudiadas (Tabla 2 y Tabla 3 – Materiales y métodos generales). Los componentes causales de la correlación fenotípica (Falconer y Mackay, 1996), fueron estimados mediante el desglose de las covarianzas [3]

$$\rho_{F(xy)} = \frac{Cov_{F(xy)}}{\sigma_{F_x} * \sigma_{F_y}} \quad [1] \quad \rho_{G(xy)} = \frac{Cov_{G(xy)}}{\sigma_{G_x} * \sigma_{G_y}} \quad [2]$$

Siendo,  $\rho_{F(xy)}$  el coeficiente de correlación fenotípico;  $Cov_{F(xy)}$  la covarianza fenotípica entre los caracteres  $x$  e  $y$ ;  $\sigma_{F_x} * \sigma_{F_y}$ : el producto de los desvíos estándar fenotípicos de los caracteres  $x$  e  $y$ ;  $\rho_{G(xy)}$ : el coeficiente de correlación genotípico;  $Cov_{G(xy)}$ : la covarianza genotípica entre los caracteres  $x$  e  $y$ ;  $\sigma_{G_x} * \sigma_{G_y}$ : el producto entre los desvíos estándar genotípicos de los caracteres  $x$  e  $y$ .

$$\text{Correlación fenotípica} = \text{Componente genético} + \text{Componente ambiental} \quad [3]$$

$$Cov_{F(xy)} = Cov_{G(xy)} + Cov_{e(xy)}$$

$$\rho_{F(xy)} = \rho_{G(xy)} * h_x * h_y + \rho_{e(xy)} * e_x * e_y$$

$$\rho_{e(xy)} * e_x * e_y = \rho_{F(xy)} - \rho_{G(xy)} * h_x * h_y$$

$$\text{Componente ambiental} = \rho_{F(xy)} - \rho_{G(xy)} * h_x * h_y$$

siendo,  $\rho_{e(xy)}$ : la correlación ambiental entre los caracteres  $x$  e  $y$ ;  $h_x * h_y$ : el producto entre la raíz cuadrada de la heredabilidad en sentido amplio de cada carácter; y  $\rho_{e(xy)} * e_x * e_y$  es la covarianza ambiental  $Cov_{e(xy)}$ .

Los componentes de varianzas se obtuvieron a partir del análisis de varianza combinado a través de ambientes mediante modelos lineales mixtos empleando el método REML, con el software META-R versión 6.0 (Alvarado *et al.*, 2016). Los genotipos estudiados fueron los híbridos experimentales y se consideraron aleatorios al igual que los cuatro ambientes evaluados. El modelo ajustado [4] fue:



$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \delta_j + \beta(\delta)_{kj} + \alpha\delta_{ij} + \varepsilon_{ijk} \quad [4]$$

donde,  $Y_{ijk}$  es la respuesta del genotipo  $i$  para el ambiente  $j$  en la repetición  $k$ ;  $\mu$  es la media general;  $\alpha_i$  es el efecto aleatorio del genotipo  $i$  con  $i=1\dots10$ ;  $\delta_j$  es el efecto fijo de del ambiente  $j$  con  $j=1,\dots,4$ ;  $\beta(\delta)_{kj}$  es el efecto fijo de bloque  $k$  con  $k = 1,2$  dentro del ambiente  $j$ ;  $\alpha\delta_{ij}$  es el efecto aleatorio de la interacción del genotipo  $i$  con el ambiente  $j$ ; y  $\varepsilon_{ijk}$  es el término de error aleatorio asociado a la observación  $Y_{ijk}$ .

Con las varianzas obtenidas se estimó la heredabilidad en sentido amplio de cada carácter a través de ambientes [5] como

$$H = \frac{\sigma_G^2}{\sigma_G^2 + (\sigma_{G \times A}^2)/r + (\sigma_e^2/r.A)} \quad [5]$$

Siendo  $\sigma_G^2$  la varianza debida a los genotipos,  $\sigma_{G \times A}^2$  la varianza debida a la interacción entre el genotipo y el ambiente;  $\sigma_e^2$  la varianza debida al error;  $r$  el número de repeticiones y  $A$  el número de ambientes ensayados (Falconer y Mackay, 1996).

Los elementos de la matriz de correlaciones genéticas [6] se estimaron empleando la información de los progenitores (Tabla 2 – Materiales y métodos generales) mediante el método de covarianzas cruzadas (Falconer y Mackay, 1996) en R versión 3.5.1 (R Core Team, 2018), para características de calidad de grano y de biomasa, como:

$$r_{Axy} = \frac{Cov_{x_p y_h}}{\sqrt{2(Cov_{x_p x_h} * Cov_{y_p y_h})}} \quad [6]$$

dónde,  $r_{Axy}$  es la correlación genética o aditiva entre los caracteres  $x$  e  $y$ ;  $Cov_{x_p y_h}$  es la covarianza cruzada entre los valores fenotípicos del carácter  $x$  en los progenitores ( $p$ ) y los valores fenotípicos del carácter  $y$  en la descendencia ( $h$ );  $cov_{x_p x_h}$  y  $cov_{y_p y_h}$  son las covarianzas entre padres e hijos para los caracteres  $x$  e  $y$  respectivamente.

Las significancias de las correlaciones genotípicas y genéticas se determinaron empleando una prueba  $t$  de *Student* luego de realizar una normalización de los coeficientes de correlación mediante la transformación Z-score (Sokal y Rohlf, 1995; Gutteling *et al.*, 2007; Khan *et al.*, 2020).

El nivel de asociación entre el promedio de los pares posibles de líneas parentales y sus híbridos se cuantificó mediante el coeficiente de correlación de Pearson estimado utilizando

la ecuación [1], siendo  $x$  el valor fenotípico promedio de ambas líneas parentales, e  $y$  el valor fenotípico de su híbrido.

La producción de etanol por hectárea ( $\text{l.ha}^{-1}$ ) se determinó para bioetanol de primera generación (PEG) como el producto entre el rendimiento de etanol a partir de grano y el rendimiento de grano ( $REGN \times RG$ ), y para bioetanol de segunda generación (PEB) como el producto entre el rendimiento de etanol a partir de biomasa y el rendimiento de biomasa ( $REB \times RB$ ). Se obtuvieron los BLUPs a partir del análisis de varianza aplicando el modelo previamente mostrado [4], incluyendo el ambiente Colón 2015-16 debido a que se tenían los registros de dichos caracteres.

## Resultados

Esta sección está organizada en tres partes, Análisis de las propiedades térmicas del almidón, Correlaciones fenotípicas, genotípicas y genéticas entre caracteres y Correlaciones entre líneas progenitoras y sus híbridos para los caracteres de calidad.

### 1. Análisis de las propiedades térmicas del almidón

En promedio el proceso de gelatinización requirió una temperatura de inicio ( $T_{0G}$ ) de 68,9 °C, temperatura de pico ( $T_{PG}$ ) de 73,5 °C y una entalpía ( $\Delta H_G$ ) de 9,1 J/g. El rango de gelatinización ( $R_G$ ) fue 12,9 °C y el índice de altura de pico ( $PHI_G$ ) 2,9. Para el proceso de retrogradación en promedio la temperatura de inicio ( $T_{0R}$ ) fue 49,3 °C y la temperatura del pico ( $T_{PR}$ ) se registró a los 59,0 °C, con una entalpía ( $\Delta H_R$ ) de 19,5 J/g, evidenciando un rango ( $R_R$ ) y porcentaje ( $P_R$ ) de retrogradación de 6,1 °C y 47,5 %, respectivamente.

Las propiedades térmicas no mostraron variabilidad significativa atribuible a la interacción del genotipo con el ambiente ( $p - valor > 0,05$ ). Los caracteres de gelatinización: temperatura de inicio ( $T_{0G}$ ) y de pico ( $T_{PG}$ ), índice de altura de pico ( $PHI_G$ ) y el rango de retrogradación ( $R_R$ ) mostraron variabilidad genotípica entre los híbridos evaluados ( $p - valor < 0,05$ ), (Tabla 2.1).

**Tabla 2.1.** Estimaciones REMLs de componentes de varianzas de las propiedades térmicas de almidón de diez híbridos evaluados en cuatro ambientes del norte de la provincia de Buenos Aires en experimentos con dos repeticiones.

|                  | $T_{0G}$            | $T_{PG}$            | $R_G$               | $\Delta H_G$        | $PHI_G$             | $T_{0R}$            | $T_{PR}$            | $R_R$               | $\Delta H_R$        | $P_R$               |
|------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| FV               | -----°C-----        |                     |                     |                     |                     | -----°C-----        |                     |                     |                     |                     |
|                  | J/g                 |                     |                     |                     |                     | J/g                 |                     |                     |                     |                     |
|                  |                     |                     |                     |                     |                     | %                   |                     |                     |                     |                     |
| $\sigma_G^2$     | <b>0.435**</b>      | <b>0.383***</b>     | 0.192 <sup>ns</sup> | 0.125 <sup>ns</sup> | <b>0.043**</b>      | 0.597 <sup>ns</sup> | 0.096 <sup>ns</sup> | <b>0.964**</b>      | 0.000 <sup>ns</sup> | 0.000 <sup>ns</sup> |
| $\sigma_{GXA}^2$ | 0.000 <sup>ns</sup> | 0.000 <sup>ns</sup> | 0.000 <sup>ns</sup> | 0.102 <sup>ns</sup> | 0.000 <sup>ns</sup> | 0.000 <sup>ns</sup> | 0.097 <sup>ns</sup> | 0.000 <sup>ns</sup> | 0.000 <sup>ns</sup> | 0.000 <sup>ns</sup> |
| $\sigma_e^2$     | 1.149               | 0.186               | 4.087               | 0.525               | 0.139               | 3.247               | 1.542               | 2.866               | 0.564               | 29.722              |
| $\mu$            | 68,99               | 73,51               | 9,05                | 12,91               | 2,96                | 49,30               | 59,04               | 19,47               | 6,14                | 47,53               |

$T_{0G}$ : Temperatura de inicio de gelatinización;  $T_{PG}$ : temperatura del pico de gelatinización;  $\Delta H_G$ : entalpía de gelatinización;  $R_G$ : rango de gelatinización;  $PHI_G$ : índice de altura de pico de gelatinización;  $T_{0R}$ : temperatura de inicio de la retrogradación;  $T_{PR}$ : temperatura del pico de retrogradación;  $\Delta H_R$ : entalpía de retrogradación;  $R_R$ : rango de retrogradación;  $P_R$ : porcentaje de retrogradación; FV: fuente de variación;  $\sigma_G^2$ : varianza genotípica;  $\sigma_{G \times Amb}^2$ : varianza genotipo por ambiente;  $\sigma_e^2$ : varianza residual;  $\mu$ : media ajustada; <sup>ns</sup> No significativa; \* significativo a un nivel de probabilidad de 0.05; \*\* significativo a un nivel de probabilidad de 0.01; \*\*\* significativo a un nivel de probabilidad de 0.001.

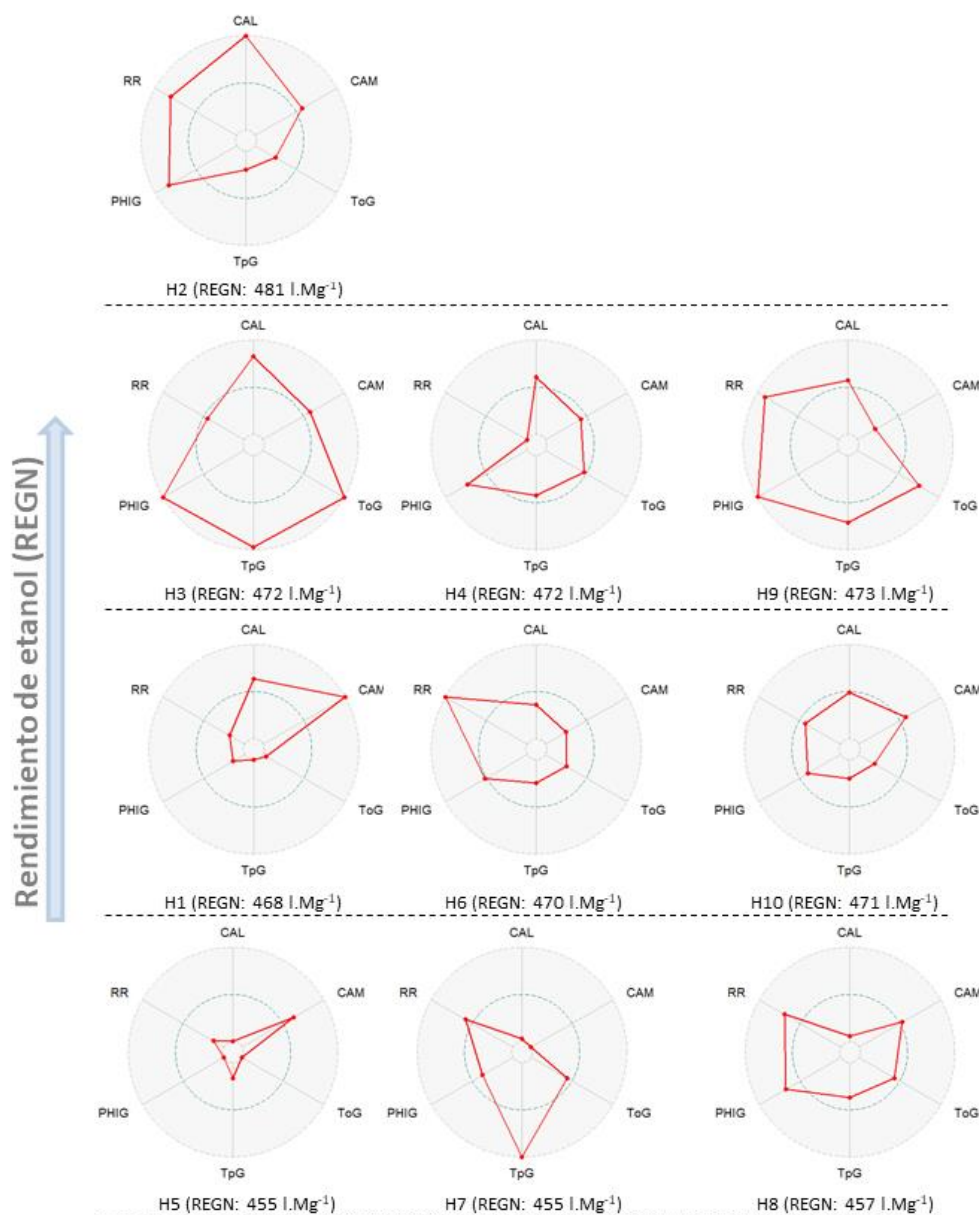
A los fines descriptivos, estas propiedades térmicas junto con las concentraciones de almidón y amilosa se graficaron ordenándolos según un gradiente de mayor a menor

rendimiento de etanol a partir de grano (REGN) (Figura 2.1, se pueden ver con mayor detalle en Apéndice Tabla A1).

El híbrido 2 (LP29 x LP2542) fue el que presentó mayor concentración de almidón (CAL), con una concentración intermedia de amilosa (CAM), y mostró un rendimiento de etanol a partir de grano (REGN) de  $481 \text{ l.Mg}^{-1}$ . Su almidón se caracterizó por temperaturas de inicio de gelatinización y de pico de gelatinización menores y un rango de retrogradación mayor que la de los almidones de los genotipos que mostraron REGN superiores a  $471 \text{ l.Mg}^{-1}$  (Genotipos 9 (LP923 x LP2542), 3 (LP923 x LP29) y 4 (LP214 x LP29)). Esto se traduce en un menor requerimiento térmico para que comiencen a gelatinizar los primeros gránulos de almidón y para gelatinizar la mayor cantidad de estos al mismo tiempo. A su vez, los genotipos con  $\text{REGN} > 470 \text{ l.Mg}^{-1}$  requirieron mayor entalpía de gelatinización que el resto de los genotipos evaluados (Figura 2.1).

Los genotipos 7 (LP214 x LP923) y 5 (LP214 x LP661), presentaron menores REGN ( $455 \text{ l.Mg}^{-1}$ ) y CAL en relación a los híbridos evaluados. El almidón del grano del híbrido 7 (LP214 x LP923) requirió similar temperatura de inicio gelatinización y mayor temperatura de pico de gelatinización que el híbrido 5 (LP214 x LP661) (Figura 2.1).

**Figura 2.1.** Comportamiento fenotípico para las concentraciones de almidón y amilosa y propiedades térmicas de almidón en relación al rendimiento de etanol del grano de diez híbridos evaluados en cuatro ambientes del norte de la provincia de Buenos Aires, distribuidos en dos campañas agrícolas.



CAM: Concentración de almidón; CAM: Concentración de amilosa;  $T_{oG}$ : temperatura de inicio de gelatinización;  $T_{pG}$ : temperatura del pico de gelatinización;  $PHI_G$ : índice de altura de pico de gelatinización;  $R_R$ : rango de retrogradación. Los híbridos corresponden a: 1: LP29 x LP661; 2: LP29 x LP2542; 3: LP923 x LP29; 4: LP214 x LP29; 5: LP214 x LP661; 6: LP214 x LP2542; 7: LP214 x LP923; 8: LP923 x LP661; 9: LP923 x LP2542; 10: LP661 x LP2542.

## 2. Correlaciones fenotípicas, genotípicas y genéticas entre caracteres.

Las tres matrices de correlaciones estimadas entre los caracteres se muestran gráficamente. En la Figura 2.2 se presentan las correlaciones fenotípicas (matriz triangular inferior) y genotípicas (matriz triangular superior) que resultaron estadísticamente significativas ( $p - valor \leq 0,05$ ). En la Figura 2.3 se presenta la matriz de correlaciones genéticas estimadas mediante el método de covarianzas cruzadas. A modo exploratorio y teniendo en cuenta que la correlación no implica causalidad se presentan todas las asociaciones halladas, a pesar de que por la naturaleza tan diferente de los caracteres involucrados no se espere ningún tipo de asociación a priori.

### 2.1. Correlación del rendimiento de etanol a partir de grano.

#### *Correlaciones fenotípicas del rendimiento de etanol a partir del grano*

El rendimiento de etanol a partir de grano (REGN) presentó correlación fenotípica estadísticamente significativa ( $p - valor \leq 0,05$ ) con varios de los caracteres asociados a DQCG y DFCG. Se evidenciaron correlaciones fenotípicas ( $p - valor \leq 0,05$ ) positivas con la concentración de almidón ( $\hat{\rho}_F = 0,78$ ), ácido linoleico ( $\hat{\rho}_F = 0,50$ ) e índice de flotación ( $\hat{\rho}_F = 0,52$ ) y negativas con las concentraciones de proteína ( $\hat{\rho}_F = -0,84$ ), de aceite ( $\rho_F = -0,41$ ), ácido palmítico ( $\hat{\rho}_F = -0,42$ ), ácido oléico ( $\hat{\rho}_F = -0,47$ ), peso hectolítrico ( $\hat{\rho}_F = -0,43$ ) y relación de molienda ( $\hat{\rho}_F = -0,67$ ). Por consiguiente, se espera que el REGN sea mayor en granos con endospermo de tipo harinoso, con mayor concentración de almidón y menores concentraciones de proteína y aceite. La correlación fenotípica del REGN con las propiedades térmicas del almidón (PTA) fueron significativas ( $p - valor \leq 0,05$ ) y menores a  $|0,50|$  para temperatura de inicio de retrogradación ( $\hat{\rho}_F = 0,26$ ), entalpía de retrogradación ( $\hat{\rho}_F = 0,35$ ), entalpía de gelatinización ( $\hat{\rho}_F = 0,42$ ), índice de altura del pico de gelatinización ( $\hat{\rho}_F = 0,50$ ), y rango de gelatinización ( $\hat{\rho}_F = -0,41$ ). Con respecto a los caracteres asociados a DQCB, las correlaciones fenotípicas observadas REGN fueron positivas ( $p - valor \leq 0,05$ ) con FDA ( $\hat{\rho}_F = 0,25$ ) y LDA ( $\hat{\rho}_F = 0,27$ ) y negativas con hemicelulosa ( $\hat{\rho}_F = -0,29$ ), aunque ninguna fue mayor a  $|0,30|$ . En cuanto a las características agronómicas y productivas se hallaron correlaciones fenotípicas negativas ( $p - valor \leq 0,05$ ), con diámetro de la espiga ( $\hat{\rho}_F = -0,23$ ), peso seco de chalas ( $\hat{\rho}_F = -0,39$ ), rendimiento de grano ( $\hat{\rho}_F = -0,24$ ) e índice de cosecha ( $\hat{\rho}_F = -0,45$ ), (Figura 2.2).

#### *Correlaciones genotípicas del rendimiento de etanol a partir del grano (REGN)*

Los coeficientes estimados de las correlaciones genotípicas entre el REGN con el resto de los caracteres resultaron, en general, mayores en valor absoluto y con el mismo sentido que las correlaciones fenotípicas correspondientes. Una excepción a este patrón general ocurrió con las correlaciones con diámetro de la espiga y LDA que tuvieron signo opuesto a las fenotípicas, y la ausencia de correlaciones genotípicas estadísticamente significativa con entalpia de retrogradación, FDA, celulosa y rendimiento de grano e índice de cosecha (Figura 2.2).

Las causas de las correlaciones fenotípicas observadas entre REGN con el resto de las variables mencionadas (Tabla 2.2) fueron mayormente de índole genotípico para los caracteres asociados DQCG, DFCG y PTA (excepto entalpia de retrogradación) y de índole ambiental para los caracteres asociados a DQCB y CAYP (excepto peso seco de chalas).

#### *Correlaciones genéticas del rendimiento de etanol a partir del grano (REGN)*

El rendimiento de etanol a partir de grano presentó correlación genética significativa ( $p - \text{valor} \leq 0,05$ ) con todos los caracteres asociados a DQCG y DFCG a excepción de las concentraciones de ácidos esteárico y linolénico. Estas fueron de igual signo y mayor magnitud que las obtenidas entre los efectos genotípicos para las concentraciones de almidón ( $\hat{\rho}_A = 0,99$ ), proteína ( $\hat{\rho}_A = -0,99$ ) y amilosa ( $\hat{\rho}_A = 0,35$ ). Por lo contrario, los coeficientes de las correlaciones genéticas del rendimiento de etanol a partir de grano con el resto de los caracteres fueron de igual signo y menor magnitud que los coeficientes de las correlaciones genotípicas para ácido linoleico ( $\hat{\rho}_A = 0,56$ ), índice de flotación ( $\hat{\rho}_A = 0,95$ ), ácido palmítico ( $\hat{\rho}_A = -0,68$ ), ácido oleico ( $\hat{\rho}_A = -0,52$ ), peso hectolítrico ( $\hat{\rho}_A = -0,67$ ), relación de molienda ( $\hat{\rho}_A = -0,75$ ) y densidad de grano ( $\hat{\rho}_A = -0,33$ ), (Figura 2.3).

Con respecto a las propiedades térmicas del almidón (PTA), el REGN presentó correlación genética significativa ( $p - \text{valor} < 0,05$ ) con temperatura de pico de gelatinización ( $\hat{\rho}_A = -0,22$ ), rango de gelatinización ( $\hat{\rho}_A = -0,66$ ), entalpia de gelatinización ( $\hat{\rho}_A = 0,99$ ), índice de altura del pico de gelatinización ( $\hat{\rho}_A = 0,74$ ), entalpia de retrogradación ( $\hat{\rho}_A = 0,99$ ) y porcentaje de retrogradación ( $\hat{\rho}_A = 0,52$ ). La estimación de las correlaciones genéticas para temperatura de inicio de retrogradación, temperatura del pico de retrogradación y rango de retrogradación no se pudieron efectuar debido a que la covarianza progenie-progenitor de estos caracteres resultó negativa y la raíz cuadrada de un número negativo no tiene

solución real, pero puede llegar a interpretarse que la progenie expresa un comportamiento opuesto a los parentales para estos atributos (Figura 2.3).

## 2.2. Correlación del rendimiento de etanol a partir de biomasa (REB).

*Correlaciones fenotípicas del rendimiento de etanol a partir de biomasa (REB) y entre caracteres asociados a su estimación.*

Se detectaron correlaciones fenotípicas ( $p - valor \leq 0,05$ ) entre los caracteres asociados a la estimación del rendimiento de etanol a partir de biomasa. Estas fueron positiva entre FDN y FDA ( $\hat{\rho}_F = 0,85$ ), y negativas entre LDA y FDN ( $\hat{\rho}_F = -0,37$ ), FDN y DIVF ( $\hat{\rho}_F = -0,71$ ), FDN y DFDN ( $\hat{\rho}_F = -0,27$ ), FDA y DIVF ( $\hat{\rho}_F = -0,79$ ) y FDA y DFDN ( $\hat{\rho}_F = -0,39$ ). Con respecto a los caracteres asociados a CAYP se encontró que las correlaciones fenotípicas entre el REB fueron significativas ( $p - valor \leq 0,05$ ) y positivas con el número de hileras por espiga ( $\hat{\rho}_F = 0,23$ ) y peso seco de marlo ( $\hat{\rho}_F = 0,27$ ) y negativas con días a floración femenina ( $\hat{\rho}_F = -0,60$ ) y rendimiento de biomasa vegetativa ( $\hat{\rho}_F = -0,54$ ), (Figura 2.2).

*Correlaciones genotípicas del rendimiento de etanol a partir de la biomasa (REB) y entre caracteres asociados a su estimación.*

Se observaron correlaciones genotípicas significativas ( $p - valor \leq 0,05$ ) entre REB y ciertos caracteres asociados a DQCG, DFCG y PTA. Dentro de lo esperable por la naturaleza diferente de los caracteres involucrados, no se halló ningún patrón que asocie el REB con la dureza del grano. Se observaron correlaciones genotípicas estadísticamente significativas ( $p - valor \leq 0,05$ ) entre REB y algunos caracteres asociados a CAYP. En líneas generales, las correlaciones genotípicas fueron negativas (Figura 2.2).

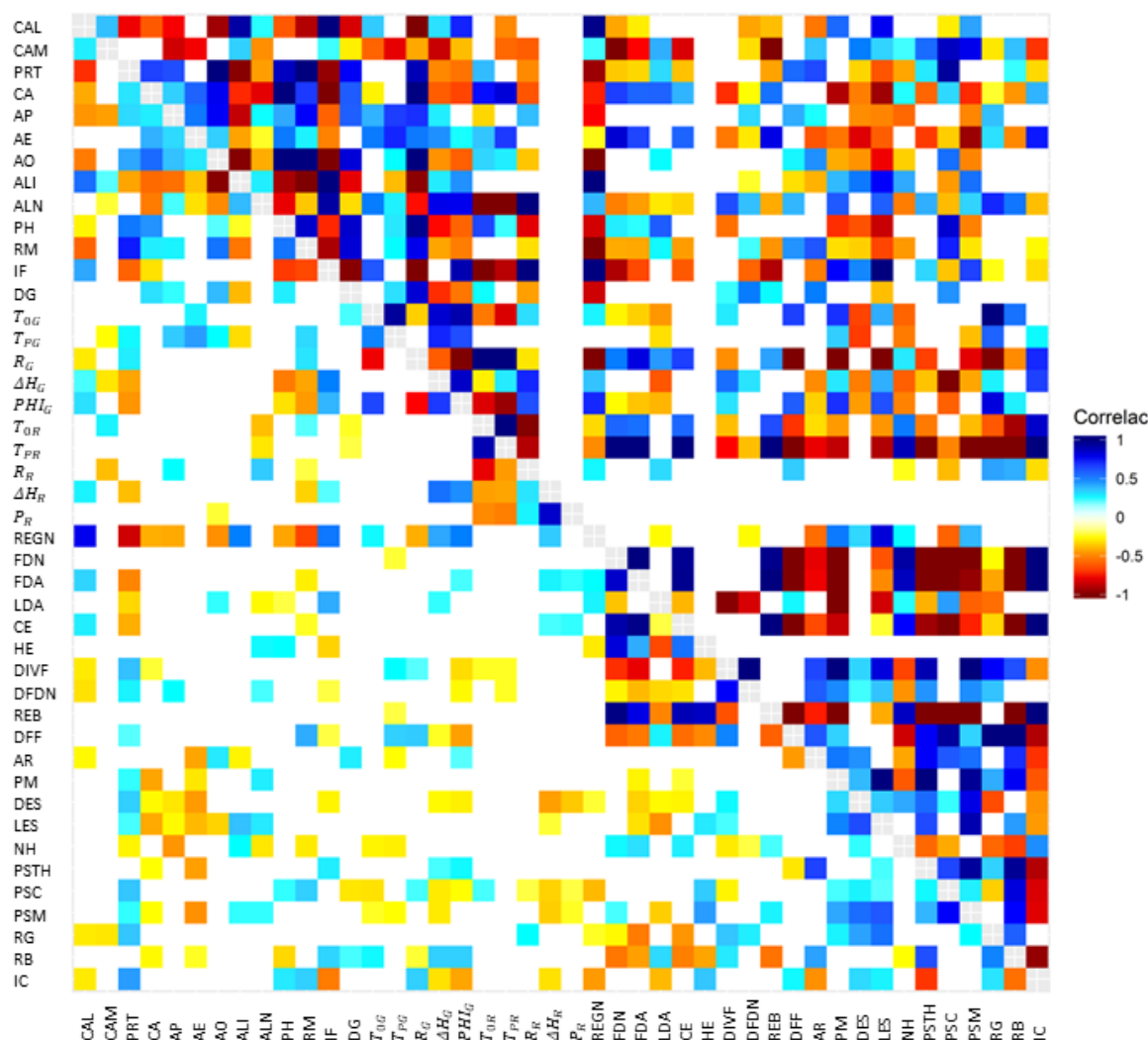
Las correlaciones fenotípicas (Tabla 2.2) entre REB con días a floración femenina, número de hileras de grano y rendimiento de biomasa vegetativa respondieron, en mayor proporción, al componente causal genotípico. En cambio, en los caracteres restantes la causa fue en mayor medida debido al componente ambiental.



*Correlaciones genéticas del rendimiento de etanol a partir de biomasa (REB) y caracteres asociados en su estimación.*

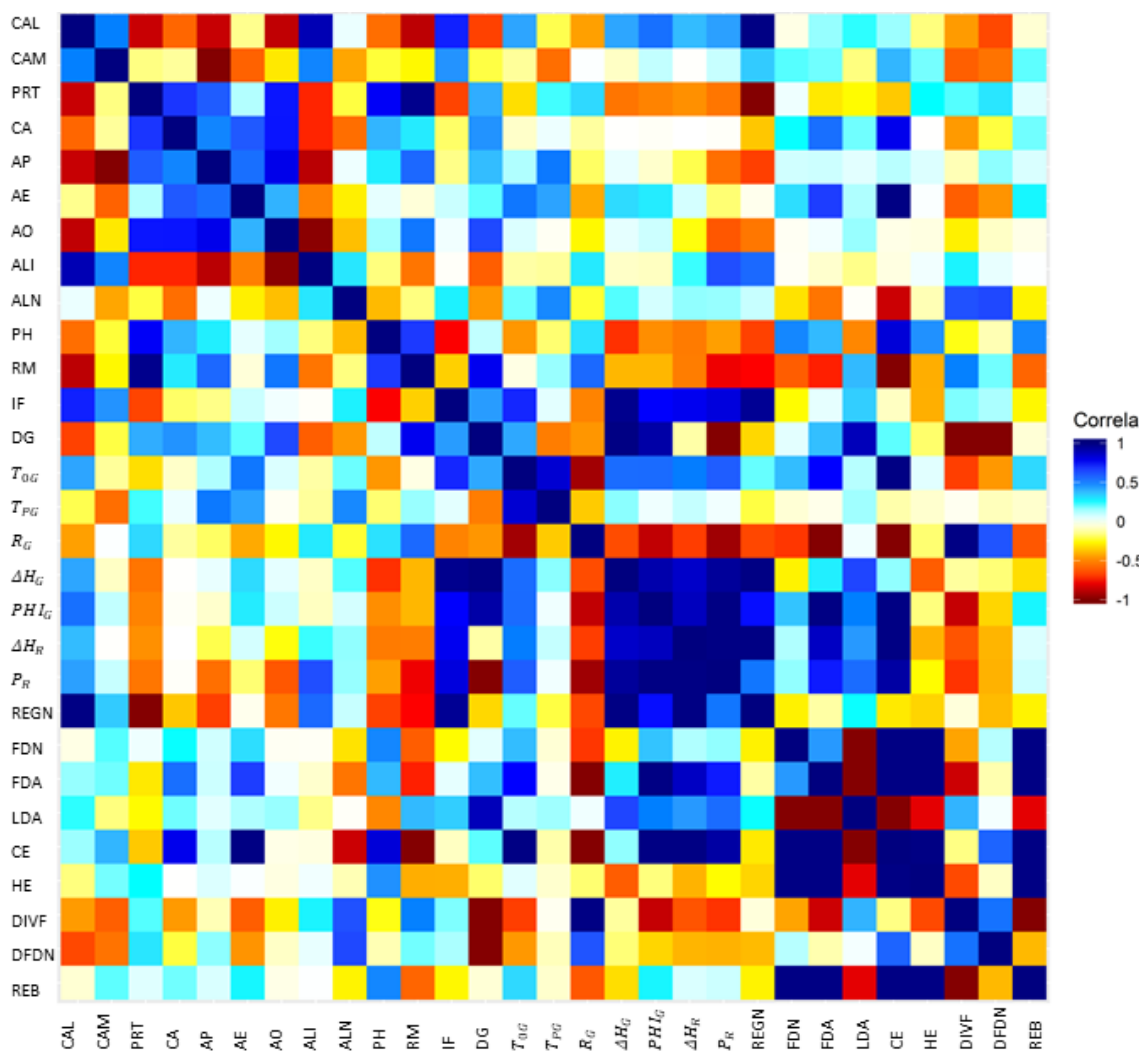
El REB presentó correlación genética estadísticamente significativa ( $p - valor \leq 0,05$ ) únicamente con la concentración de ácidos esteárico ( $\hat{\rho}_A = 0,27$ ) y linolénico ( $\hat{\rho}_A = -0,27$ ) y sin un patrón definido de asociación con DFCG. Las correlaciones genéticas halladas entre el REB que resultaron estadísticamente significativas ( $p - valor \leq 0,05$ ) y negativas fueron con DIVF ( $\hat{\rho}_A = -0,99$ ), y DFDN ( $\hat{\rho}_A = -0,39$ ). La correlación genética entre FDN y FDA resultó positiva ( $\hat{\rho}_A = 0,45$ ) y entre FDN y LDA negativa ( $\hat{\rho}_A = -0,99$ ). (Figura 2.3).

**Figura 2.2.** Correlación fenotípica (triángulo inferior) y genotípica (triángulo superior) entre los caracteres a partir de los valores fenotípicos de los híbridos F1 evaluados en cuatro ambientes del norte de Buenos Aires. La escala de color a la derecha del gráfico indica la magnitud del coeficiente de correlación entre caracteres que resultaron significativos ( $p \leq 0,05$ ). Las correlaciones no significativas ( $p > 0,05$ ) se denotan en blanco.



CAL: Concentración de almidón; PRT: Concentración de proteína; CA: Concentración de aceite; AP: Ácido palmítico; AE: Ácido esteárico; AO: Ácido oleico; ALI: Ácido linoleico; ALN: Ácido linolénico; PH: Peso hectolítrico; RM: Relación de molienda; IF: Índice de flotación; DG: Densidad de grano;  $T_{0G}$ : Temperatura de inicio de gelatinización;  $T_{PG}$ : Temperatura del pico de gelatinización;  $\Delta H_G$ : entalpía de gelatinización;  $R_G$ : rango de gelatinización;  $PHI_G$ : índice de altura de pico de gelatinización;  $T_{0R}$ : temperatura de inicio de la retrogradación;  $T_{PR}$ : Temperatura del pico de retrogradación;  $\Delta H_R$ : entalpía de retrogradación;  $R_R$ : rango de retrogradación;  $P_R$ : porcentaje de retrogradación; FDN: fibra detergente neutro; REG: Rendimiento de etanol a partir de grano; FDA: fibra detergente ácido; LDA: lignina detergente ácido; CE: celulosa; HE: hemicelulosa; DIVF: digestibilidad *in vitro* de la fibra; DFDN: digestibilidad de FDN; REB: Rendimiento de etanol a partir de biomasa; DFF: Días de floración femenina; AR: Altura relativa; PM: peso de 1000 granos; DES: Diámetro de la espiga; LES: Longitud de la espiga; NH: Número de hileras; PSTH: Peso seco de tallos y hojas; PSC: Peso seco de chalas; PSM: Peso seco de marlos; RG: Rendimiento de grano; RB: Rendimiento de biomasa; IC: Índice de cosecha.

**Figura 2.3.** Matriz de correlaciones genéticas estimadas mediante el método de covarianzas cruzadas a partir de los valores fenotípicos de las 5 líneas parentales y sus híbridos F1 evaluados en cuatro ambientes del norte de la provincia de Buenos Aires distribuidos en dos campañas agrícolas. La escala de color a la derecha del gráfico indica la magnitud del coeficiente de correlación entre caracteres que resultaron significativos ( $p \leq 0,05$ ). Las correlaciones no significativas ( $p > 0,05$ ) se denotan en blanco.



CAL: Concentración de almidón; CAM: Concentración de amilosa; PRT: Concentración de proteína; CA: Concentración de aceite; AP: ácido palmítico; AE: ácido esteárico; AO: ácido oleico; ALI: ácido linoleico; ALN: ácido linolénico; PH: Peso hectolítrico; RM: Relación de molienda; IF: Índice de flotación; DG: Densidad de grano;  $T_{0G}$ : Temperatura de inicio de gelatinización;  $T_{PG}$ : Temperatura del pico de gelatinización;  $R_G$ : rango de gelatinización;  $\Delta H_G$ : entalpía de gelatinización;  $PHI_G$ : índice de altura de pico de gelatinización;  $\Delta H_R$ : entalpía de retrogradación;  $R_R$ : rango de retrogradación;  $P_R$ : porcentaje de retrogradación; REGN: Rendimiento de etanol a partir de grano; FDN: fibra detergente neutro; FDA: fibra detergente ácido; LDA: lignina detergente ácido; CE: celulosa; HE: hemicelulosa; DIVF: digestibilidad in vitro de la fibra; DFDN: digestibilidad de FDN; REB: Rendimiento de etanol a partir de biomasa.

**Tabla 2.2.** Estimaciones de los coeficientes de correlación fenotípica ( $\hat{\rho}_F$ ), correlación genotípica ( $\hat{\rho}_G$ ) y contribución del componente genotípico (%G) a la correlación fenotípica a partir de híbridos F1, y correlación genética ( $\hat{\rho}_A$ ) estimada a partir del método de covarianzas cruzadas para el rendimiento de etanol a partir de grano (REGN) y de biomasa (REB) con el resto de los caracteres evaluados.  $\hat{\rho}_A$

| Variables                                  | REGN           |       |                |                | REB            |       |                |                |
|--------------------------------------------|----------------|-------|----------------|----------------|----------------|-------|----------------|----------------|
|                                            | $\hat{\rho}_F$ | %G    | $\hat{\rho}_G$ | $\hat{\rho}_A$ | $\hat{\rho}_F$ | %G    | $\hat{\rho}_G$ | $\hat{\rho}_A$ |
| Concentración de almidón                   | 0,78           | 88,43 | 0,98           | 0,99           | ns             | -     | -0,38          | ns             |
| Concentración de amilosa                   | ns             | -     | 0,23           | 0,35           | ns             | -     | -1,00          | ns             |
| Concentración de proteína                  | -0,84          | 98,81 | -0,94          | -0,99          | ns             | -     | -0,43          | ns             |
| Concnetración de aceite                    | -0,41          | 71,18 | -0,73          | -0,36          | ns             | -     | 0,54           | ns             |
| Ácido palmítico                            | -0,42          | 71,36 | -0,75          | -0,68          | ns             | -     | ns             | ns             |
| Ácido esteárico                            | ns             | -     | -0,24          | ns             | ns             | -     | 0,80           | 0,27           |
| Ácido oleico                               | -0,47          | 67,03 | -1,00          | -0,53          | ns             | -     | ns             | ns             |
| Ácido linoleico                            | 0,50           | 68,23 | 1,00           | 0,56           | ns             | -     | ns             | ns             |
| Ácido linolénico                           | ns             | -     | 0,39           | ns             | ns             | -     | -0,42          | -0,27          |
| Peso hectolitrico                          | -0,43          | 75,58 | -0,83          | -0,68          | ns             | -     | ns             | 0,48           |
| Relación de molienda                       | -0,67          | 79,51 | -1,00          | -0,75          | ns             | -     | -0,46          | -0,58          |
| Índice de flotación                        | 0,52           | 86,28 | 1,00           | 0,96           | ns             | -     | -0,90          | -0,26          |
| Densidad de grano                          | ns             | 57,87 | -0,84          | -0,33          | ns             | -     | 0,26           | ns             |
| T° de inicio de gelatinización             | 0,26           | 85,70 | 0,27           | ns             | ns             | -     | ns             | 0,32           |
| T° de pico de gelatinización               | ns             | -     | ns             | -0,22          | -0,22          | 7,16  | ns             | ns             |
| Rango de gelatinización                    | -0,41          | 84,94 | -1,00          | -0,66          | ns             | -     | 0,43           | -0,62          |
| Entalpía de gelatinización                 | 0,42           | 63,11 | 0,37           | 0,99           | ns             | -     | ns             | -0,32          |
| Índice de altura de pico de gelatinización | 0,50           | 88,65 | 0,71           | 0,74           | ns             | -     | ns             | 0,27           |
| T° de inicio de retrogradación             | ns             | 54,55 | -0,33          | -              | ns             | -     | 0,63           | -              |
| T° de pico de retrogradación               | ns             | 51,01 | -0,48          | -              | ns             | -     | 1,00           | -              |
| Rango de retrogradación                    | ns             | 59,80 | 0,26           | -              | ns             | -     | ns             | -              |
| Entalpia de retrogradación                 | 0,35           | -     | ns             | 0,99           | ns             | -     | ns             | ns             |
| Porcentaje de retrogradación               | ns             | -     | ns             | 0,53           | ns             | -     | ns             | ns             |
| Rendimiento de etanol – grano              | 1              | -     | 1              | 1,00           | ns             | -     | ns             | -0,27          |
| Fibra detergente neutro                    | ns             | -     | ns             | -0,28          | -              | -     | -              | -              |
| Fibra detergente ácido                     | 0,25           | 12,82 | ns             | ns             | -              | -     | -              | -              |
| Lignina detergente ácido                   | 0,27           | 29,31 | -0,26          | 0,25           | -              | -     | -              | -              |
| Celulosa                                   | ns             | -     | ns             | -0,29          | -              | -     | -              | -              |
| Hemicelulosa                               | -0,29          | -     | ns             | -0,34          | -              | -     | -              | -              |
| Digestibilidad in vitro de la fibra        | ns             | -     | ns             | ns             | -0,64          | 3,65  | ns             | -0,99          |
| Digestibilidad de FDN                      | ns             | -     | -0,26          | -0,39          | ns             | -     | ns             | -0,39          |
| Rendimiento de etanol - biomasa            | ns             | -     | ns             | -0,27          | 1,00.          | -     | 1,00           | 1,00           |
| Días a floración femenina                  | ns             | -     | ns             | -              | -0,60          | 77,75 | -1,00          | -              |
| Altura relativa                            | ns             | 54,74 | -0,56          | -              | ns             | -     | -0,73          | -              |
| Peso de mil granos                         | ns             | 45,90 | 0,52           | -              | ns             | -     | -1,00          | -              |
| Diámetro de la espiga                      | -0,23          | 35,73 | 0,33           | -              | ns             | -     | ns             | -              |
| Longitud de la espiga                      | ns             | -     | 0,82           | -              | ns             | -     | -0,42          | -              |
| Número de hileras                          | ns             | -     | 0,25           | -              | 0,23           | 64,35 | 0,86           | -              |
| Peso seco de tallos y hojas                | ns             | -     | ns             | -              | ns             | -     | -1,00          | -              |
| Peso seco de chalas                        | -0,39          | 85,84 | -0,59          | -              | ns             | -     | -1,00          | -              |
| Peso seco de marlos                        | ns             | -     | 0,39           | -              | 0,27           | 40,19 | -1,00          | -              |
| Rendimiento de grano                       | -0,24          | 0,22  | ns             | -              | ns             | -     | ns             | -              |
| Rendimiento de biomasa vegetativa          | ns             | -     | ns             | -              | -0,54          | 94,46 | -1,00          | -              |
| Índice de cosecha                          | -0,45          | 11,81 | ns             | -              | ns             | -     | 1,00           | -              |

### 2.3. Relación del rendimiento de bioetanol ( $\text{l.Mg}^{-1}$ ) con el rendimiento de materia seca por hectárea

La producción de bioetanol por hectárea está dada por el producto entre el rendimiento de etanol a partir de grano o de biomasa ( $\text{l.Mg}^{-1}$ ) y el rendimiento por hectárea del material ( $\text{Mg.ha}^{-1}$ ) fermentable (grano ó biomasa). En esta sección abordaremos las relaciones existentes entre estos atributos con el resto de los caracteres evaluados.

#### 2.3.1. Rendimiento de grano y su relación con el rendimiento de bioetanol de primera generación.

En cuanto al rendimiento de grano (RG), el análisis de correlación fenotípica mostró la existencia de una asociación lineal ( $p - \text{valor} \leq 0,05$ ) con los caracteres asociados a DQCG. Estas correlaciones fueron positivas con la concentración de proteína ( $\hat{\rho}_F = 0,36$ ) y negativas con las concentraciones de almidón ( $\hat{\rho}_F = -0,29$ ) y amilosa ( $\hat{\rho}_F = -0,30$ ). No se hallaron correlaciones fenotípicas estadísticamente significativas ( $p - \text{valor} \leq 0,05$ ) con caracteres asociados a DFCEG ni con las propiedades térmicas del almidón, excepto con el rango de retrogradación ( $\hat{\rho}_F = 0,25$ ). La mayoría de los caracteres asociados a DQCB se correlacionaron fenotípicamente con el RG; estas correlaciones fueron estadísticamente significativas ( $p - \text{valor} \leq 0,05$ ) y negativas con FDN ( $\hat{\rho}_F = -0,26$ ), FDA ( $\hat{\rho}_F = -0,51$ ), celulosa ( $\hat{\rho}_F = -0,46$ ) y positivas con digestibilidad *in vitro* de la fibra ( $\rho_F = 0,36$ ) y digestibilidad de FDN ( $\hat{\rho}_F = 0,28$ ). El RG presentó correlación fenotípica estadísticamente significativa ( $p - \text{valor} \leq 0,05$ ) con caracteres de CAYP, tanto con sus componentes peso de mil granos ( $\hat{\rho}_F = 0,27$ ), diámetro de la espiga ( $\hat{\rho}_F = 0,43$ ), longitud de la espiga ( $\hat{\rho}_F = 0,54$ ), como con caracteres de producción y partición de fotoasimilados: peso seco de marlos ( $\hat{\rho}_F = 0,25$ ), índice de cosecha ( $\hat{\rho}_F = 0,30$ ) y rendimiento de biomasa vegetativa ( $\hat{\rho}_F = 0,49$ ), (Figura 2.2).

Las correlaciones genotípicas observadas entre el rendimiento de grano (RG) con las DQCG resultaron significativas ( $p - \text{valor} \leq 0,05$ ) y negativa con las concentraciones de amilosa ( $\hat{\rho}_G = -0,3$ ) y aceite ( $\hat{\rho}_G = -0,24$ ), y positiva con los porcentajes de ácidos esteárico ( $\hat{\rho}_G = -0,31$ ), palmítico ( $\hat{\rho}_G = -0,37$ ) y linolénico ( $\hat{\rho}_G = 0,71$ ). De los cuatro caracteres correspondientes a las DFCEG, la correlación genotípica con RG solo fue estadísticamente significativa ( $p - \text{valor} \leq 0,05$ ) con el índice de flotación ( $\hat{\rho}_G = -0,25$ ). En relación a las PTA, se observó que el RG presentó correlaciones genotípicas

estadísticamente significativa ( $p - valor \leq 0,05$ ) y positiva con  $T_{0G}$  ( $\hat{\rho}_G = 1$ ),  $T_{PG}$  ( $\hat{\rho}_G = 0,58$ );  $\Delta H_G$  ( $\hat{\rho}_G = 0,27$ ) y  $PHI_G$  ( $\hat{\rho}_G = 0,81$ ) y negativa con  $R_G$  ( $\hat{\rho}_G = -1$ ),  $T_{0R}$  ( $\hat{\rho}_G = -0,62$ ),  $T_{PR}$  ( $\hat{\rho}_G = -1$ ) y  $R_R$  ( $\hat{\rho}_G = -0,43$ ). Las DQCB presentaron correlaciones genotípicas entre el RG del mismo signo y similar magnitud que las correlaciones fenotípicas mencionadas previamente (Figura 2.2).

Los componentes causales de las correlaciones fenotípicas del rendimiento de grano (RG) con DQCG y PTA fueron predominantemente genotípicos para la concentración de amilosa y rango de retrogradación y de naturaleza ambiental para el rendimiento de etanol a partir de grano y concentraciones de almidón y proteína. En relación a los caracteres asociados a DQCB, la correlación fenotípica estuvo dada por causas tanto genotípicas como ambientales, excepto para digestibilidad *in vitro* de la fibra y digestibilidad de FDN mayormente atribuibles al componente genotípico. La contribución del componente ambiental a la correlación fenotípica fue de mayor gravitación para las CAYP, excepto para peso de mil granos y rendimiento de biomasa vegetativa (Tabla 2.2).

### 2.3.2. Rendimiento biomasa vegetativa y su relación con el rendimiento de bioetanol de primera generación.

El rendimiento de biomasa (RB) mostró correlación fenotípica estadísticamente significativa ( $p - valor < 0,05$ ) con la mayoría de los caracteres asociados a DQCB. Estas asociaciones fueron positivas con LDA ( $\hat{\rho}_F = 0,32$ ) y digestibilidad *in vitro* de la fibra ( $\hat{\rho}_F = 0,29$ ) y negativa con FDN ( $\hat{\rho}_F = -0,53$ ), FDA ( $\hat{\rho}_F = -0,44$ ), celulosa ( $\hat{\rho}_F = -0,50$ ) y hemicelulosa ( $\hat{\rho}_F = -0,43$ ). En relación a las CAYP el rendimiento de biomasa vegetativa se correlacionó fenotípicamente ( $p - valor < 0,05$ ) con la altura relativa ( $\hat{\rho}_F = 0,43$ ), peso seco de tallo y hoja ( $\hat{\rho}_F = 0,63$ ) y rendimiento de grano ( $\hat{\rho}_F = 0,49$ ), número de hileras ( $\hat{\rho}_F = -0,25$ ) e índice de cosecha ( $\hat{\rho}_F = -0,55$ ). El rendimiento de biomasa vegetativa no presentó correlación fenotípica estadísticamente significativa ( $p - valor < 0,05$ ) con los caracteres asociados a DCQG, (excepto con la concentración de aceite ( $\hat{\rho}_F = -0,26$ ) y ácido esteárico ( $\hat{\rho}_F = -0,24$ )), pero sí para con la mayoría de los caracteres asociados a DFCEG que resultó negativa con peso hectolítrico ( $\hat{\rho}_F = -0,33$ ) y positiva con índice de flotación ( $\hat{\rho}_F = 0,33$ ) y densidad de grano ( $\hat{\rho}_F = 0,23$ ). Se hallaron correlaciones fenotípicas menores a  $|0,35|$  con algunos caracteres asociados a PTA (Figura 2.2).

Las correlaciones genotípicas del rendimiento de biomasa fueron de igual signo y de mayor magnitud que las correlaciones fenotípicas previamente mencionadas. Sin embargo, estás

no resultaron estadísticamente significativa ( $p - valor < 0,05$ ) para peso hectolítrico, índice de flotación, densidad de grano, entalpía de gelatinización, hemicelulosa e índice de cosecha (Figura 2.2).

El componente causal de la correlación fenotípica del rendimiento de biomasa vegetativa con el resto de los caracteres fue de origen ambiental para los caracteres asociados a DQCG y DFCG y de índole genotípico para los caracteres asociados a DQCB, rendimiento de grano e índice de cosecha (Tabla 2.2).

### 2.3.3. Correlación de la producción de bioetanol con el rendimiento de materia seca ( $\text{Mg} \cdot \text{ha}^{-1}$ ) y el rendimiento de bioetanol ( $\text{l} \cdot \text{Mg}^{-1}$ )

El análisis de varianza (Tabla 2.3) mostró la presencia de variancia debido a la interacción del genotipo con el ambiente para la producción de bioetanol a partir de grano y sus variables asociadas (rendimiento de grano y rendimiento de etanol a partir de grano) a diferencia de la producción de bioetanol a partir de biomasa y sus variables asociadas (rendimiento de biomasa vegetativa y rendimiento de etanol a partir de biomasa) que la variancia debida a la interacción genotipo con el ambiente no fue estadísticamente significativa ( $p - valor > 0,05$ ). La varianza debida a los genotipos solo resultó estadísticamente significativa para producción de bioetanol y rendimiento de biomasa vegetativa.

Se estimó que el híbrido con mayor rendimiento de etanol a partir de grano (Híbrido 2, LP29 x LP2542) produce  $3.830 \text{ l} \cdot \text{ha}^{-1}$ , resultando  $575 \text{ l} \cdot \text{ha}^{-1}$  inferior al del genotipo con mayor rendimiento de grano (genotipo 9, LP923 x LP2542), Tabla 2.3.

Se estimó que el genotipo con mayor rendimiento de biomasa vegetativa (genotipo 8, LP923 x LP661) podría producir  $4.222 \text{ l} \cdot \text{ha}^{-1}$ , es decir  $1.340 \text{ l} \cdot \text{ha}^{-1}$  más que el genotipo con mayor rendimiento de etanol a partir de biomasa (Genotipo 4, LP214 x LP29), Tabla 2.3.

**Tabla 2.3.** Componentes de varianzas estimados por REMLs y los predictores BLUPs obtenidos para rendimiento de grano (RG), rendimiento de bioetanol a partir de grano (REGN), producción de bioetanol a partir de grano (PEG), rendimiento de biomasa vegetativa (RB), rendimiento de bioetanol a partir de biomasa (REB) y producción de bioetanol a partir de biomasa (PEB) en diez híbridos de maíz evaluados con dos repeticiones en cinco ambientes\* del norte de la provincia de Buenos Aires, distribuidos en dos campañas agrícolas.

| Var              | RG                  | REGN               | PEG                    | RB                  | REB                 | PEB                   |
|------------------|---------------------|--------------------|------------------------|---------------------|---------------------|-----------------------|
| UM               | Mg.ha <sup>-1</sup> | l.Mg <sup>-1</sup> | l.ha <sup>-1</sup>     | Mg.ha <sup>-1</sup> | l.Mg <sup>-1</sup>  | l.ha <sup>-1</sup>    |
| FV               | <b>ANOVA</b>        |                    |                        |                     |                     |                       |
| $\sigma_G^2$     | 0,25*               | 79,60***           | 51928,24 <sup>ns</sup> | 1,29***             | 21,44 <sup>ns</sup> | 249159,45***          |
| $\sigma_{GXA}^2$ | 0,72*               | 16,26*             | 124459,03*             | 0,11 <sup>ns</sup>  | 30,29 <sup>ns</sup> | 4007,22 <sup>ns</sup> |
| $\sigma_e^2$     | 1,27                | 29,26              | 213382,22              | 1,34                | 282,28              | 291308,67             |
| ID               | <b>BLUPS</b>        |                    |                        |                     |                     |                       |
| 1                | 9,69                | 469,11             | 3943,54                | 8,40                | 516,28              | 4041,51               |
| 2                | 9,35                | 481,70             | 3830,58                | 7,19                | 518,64              | 3342,22               |
| 3                | 9,84                | 472,93             | 4028,95                | 8,91                | 517,40              | 4225,13               |
| 4                | 9,98                | 474,35             | 4103,20                | 6,16                | 524,26              | 2882,21               |
| 5                | 9,80                | 456,63             | 3944,70                | 6,74                | 522,15              | 3206,23               |
| 6                | 9,99                | 473,44             | 4104,19                | 6,48                | 523,65              | 3061,33               |
| 7                | 9,75                | 458,36             | 3936,89                | 6,61                | 522,23              | 3108,20               |
| 8                | 9,69                | 457,27             | 3888,96                | 8,84                | 517,53              | 4222,60               |
| 9                | 10,65               | 474,16             | 4406,31                | 8,65                | 517,98              | 4114,97               |
| 10               | 9,65                | 472,02             | 3941,46                | 7,83                | 519,22              | 3699,58               |
| $\mu$            | 9,84                | 469,00             | 4012,88                | 7,58                | 519,93              | 3590,40               |
| LSD              | 1,08                | 9,18               | 476,89                 | 1,44                | 10,72               | 633,50                |

\*Los ambientes fueron Junin y Pergamino en las campañas 2015-16 y 2016-17 y Colón – Campaña 2015-16. Se estimó PEG como el producto entre RG y REGN y PEB como el producto entre RB y REB.

### 3. Correlaciones entre líneas progenitoras y sus híbridos para los caracteres de calidad.

La mayoría de los caracteres asociados a la calidad de grano y de biomasa presentaron correlación estadísticamente significativa ( $p - \text{valor} \leq 0,01$ ) entre los valores fenotípicos promedios de los parentales con su híbrido correspondiente (Tabla 2.4).



**Tabla 2.4.** Estimaciones de la correlación fenotípica línea – híbrido ( $\hat{\rho}_F$ ) a partir del valor fenotípico promedio de los parentales y su híbrido respectivo en cuatro ambientes de evaluación en el norte de la provincia de Buenos Aires, distribuidos en dos campañas agrícolas.

|      | Caracter                       | $\hat{\rho}_F$ | Carácter                                   | $\hat{\rho}_F$ |
|------|--------------------------------|----------------|--------------------------------------------|----------------|
| DQCG | Concentración de almidón       | 0,74***        | Rango de gelatinización                    | 0,40***        |
|      | Concentración de amilosa       | 0,44***        | Entalpia de gelatinización                 | 0,50***        |
|      | Concentración de proteína      | 0,80***        | índice de altura de pico de gelatinización | 0,57***        |
|      | Concentración de aceite        | 0,80***        | T° de inicio de retrogradación             | ns             |
|      | Ácido palmítico                | 0,71***        | T° de pico de retrogradación               | ns             |
|      | Ácido esteárico                | 0,67***        | Rango de retrogradación                    | ns             |
|      | Ácido oleico                   | 0,64***        | Entalpia de retrogradación                 | 0,43***        |
|      | Ácido linoleico                | 0,70***        | Porcentaje de retrogradación               | ns             |
|      | Ácido linolénico               | 0,69***        | Fibra detergente neutro                    | 0,51***        |
|      | Rendimiento de etanol – grano  | 0,74***        | Fibra detergente ácido                     | 0,38***        |
| DFCG | Peso hectolitrico              | 0,43***        | Lignina detergente ácido                   | 0,66***        |
|      | Relación de molienda           | 0,57***        | Concentración de celulosa                  | 0,76***        |
|      | Índice de flotación            | 0,53***        | Concentración de hemicelulosa              | 0,51***        |
|      | Densidad de grano              | ns             | Digestibilidad in vitro de la fibra        | 0,36***        |
| PTA  | T° de inicio de gelatinización | 0,37***        | Digestibilidad de FDN                      | 0,56***        |
|      | T° de pico de gelatinización   | 0,61***        | Rendimiento de etanol – biomasa            | 0,64***        |

ns No significativa; \* significativo a un nivel de probabilidad de 0.05; \*\* significativo a un nivel de probabilidad de 0.01; \*\*\* significativo a un nivel de probabilidad de 0.001.

Los caracteres asociados a DQCG mostraron las correlaciones ( $\hat{\rho}_F$ ) más elevadas y oscilaron entre 0,44 y 0,80, siendo la correlación línea-híbrido para el rendimiento de etanol a partir de grano de  $\hat{\rho}_F = 0,74$ . La correlación línea –híbrido para los caracteres asociados a las DFCG fueron menores a las mencionadas previamente y estuvieron entre 0,43 y 0,53, todas resultaron estadísticamente significativas ( $p - valor \leq 0,05$ ) a excepción densidad de grano. Con respecto a PTA, se observó que la correlación línea - híbrido fue estadísticamente significativa ( $p - valor \leq 0,01$ ) solo para los caracteres asociados al proceso de gelatinización. Para los caracteres asociados a DQCB la correlación línea-híbrido resultó estadísticamente significativa ( $p - valor \leq 0,01$ ) para todos los caracteres evaluados, presentando el rendimiento de etanol a partir de biomasa una correlación de 0,67 (Tabla 2.4).

## Discusión

Uno de los objetivos abordados en esta Tesis fue describir las características funcionales del almidón por sus propiedades térmicas y relacionarlas con el rendimiento de etanol a partir de grano y la concentración de almidón en híbridos maíz del programa de mejoramiento de INTA – EEA Pergamino, debido a que se ha reportado que rasgos de las PTA están asociados a la concentración de amilosa y amilopectina en el gránulo de almidón. Sievert y Wursch (1993) hallaron que a medida que disminuía la concentración de amilosa disminuía la entalpía de gelatinización, por su parte Krueger *et al* (1987) observaron que cuanto mayor era el contenido de amilopectina del almidón más estrecho resultaba el rango de temperatura de la gelatinización y Knutson *et al.* (1982) determinaron que la temperatura de inicio, el rango y entalpía de gelatinización aumentaba a medida que los gránulos eran más pequeños. En este estudio observamos que una mayor concentración de almidón se asoció a una menor temperatura de inicio de gelatinización ( $T_{0G}$ ) y/o temperatura de pico de gelatinización ( $T_{PG}$ ) y viceversa. Sin embargo, la correlación fenotípica hallada entre la concentración de almidón y esas propiedades térmicas solo resultó estadísticamente significativa para  $T_{0G}$  ( $\hat{\rho}_F = 0,21$ ;  $p - valor = 0,06$ ). A su vez, se observaron correlaciones fenotípicas y genotípicas de los caracteres que determinan las PTA con los caracteres asociados a las determinaciones de calidad física de los granos (Figuras 2.2 y 2.3). Estos resultados coinciden con los de Seetharaman *et al.*, (2001) en el caso de líneas endocriadas de maíces argentinos, donde los granos de tipo harinoso presentaron menores temperaturas de inicio de gelatinización, rango y entalpía de retrogradación que los granos de tipo duro, concluyendo que las propiedades térmicas del almidón estaban asociadas a la textura del endospermo y al tamaño del gránulo de almidón. Resultados similares fueron reportados por Eyhérbide *et al.*, (2007a) para la temperatura de inicio y de pico de gelatinización, y entalpía de gelatinización para los cuales halló diferencias entre líneas agrupándolas según la textura de grano (tipo duro y harinoso). Estos patrones asociativos fueron también confirmados en este trabajo al observarse una correlación intermedia y de signo negativo entre la temperatura de pico de gelatinización y el cambio en la entalpía de gelatinización con el peso hectolítrico y la relación de molienda, y una correlación intermedia en sentido positivo entre la temperatura de pico de gelatinización y el cambio en la entalpía de gelatinización con el índice de flotación.

Asimismo, se evaluó el grado de asociación lineal entre los caracteres a nivel fenotípico y genotípico y se cuantificó las contribuciones de las causas genotípicas y ambientales a la

correlación fenotípica. Las correlaciones fenotípicas halladas en este capítulo (con un enfoque clásico) fueron consistentes con las asociaciones entre los caracteres arribadas mediante el enfoque bayesiano, ya discutido en el Capítulo I. Las correlaciones observadas entre las concentraciones de almidón, proteína y aceite (Figura 2.2) fueron similares a las halladas por otros autores en maíz (Song *et al.*, 2004; Cook *et al.* 2012) y en su ancestro el teosinte (Karm *et al.*, 2017). La correlación positiva entre la concentración de proteína y aceite fue extensamente estudiada en el experimento de selección a largo plazo de Illinois. Al efectuar selección por alta concentración de proteína, consecuentemente se seleccionaba a la vez, por alta concentración de aceite (Dudley *et al.*, 1974; Dudley *et al.*, 2007). Por lo que existe un fuerte componente genético que contribuye a la correlación fenotípica para estas dos características, coincidente con los resultados expuestos. Estas asociaciones también fueron evidenciadas a nivel molecular, identificándose QTLs para concentraciones de proteína, aceite y almidón, con efectos consistentes con el signo de su correlación fenotípica, en posiciones idénticas o cercanas en el mismo grupode ligamiento (Goldman *et al.*, 1993; Goldman *et al.*, 1994; Song *et al.*, 2004; Zhang *et al.*, 2008; Zhang *et al.*, 2015). Entre los resultados obtenidos por Zhang *et al.*, (2008) se pueden destacar los QTLs hallados para estas características con una distancia menor a 20cM (de acuerdo con las normas propuestas por Groh *et al.*, (1998) podrían ser considerados como un único QTL). Además, de que reportaron QTLs próximos en el cromosoma 1 para las concentraciones de almidón, proteína y aceite; en el cromosoma 4 para la concentración de aceite y almidón; y en los cromosomas 7 y 8 para la concentración de almidón y proteína. Investigaciones recientes (Zhang *et al.*, 2016; Li y Song, 2020) informaron que ciertos factores de transcripción intervienen tanto en la biosíntesis de almidón como de proteínas coordinados temporalmente durante el desarrollo del endospermo.

Las correlaciones fenotípicas y genéticas entre los ácidos grasos fueron similares a las halladas en la bibliografía (Poneleit y Bauman 1970; Pamin *et al.*, 1986; Wassom *et al.*, 2008). Alrefai *et al.*, (1995) identificaron marcadores moleculares asociados al incremento o disminución de la concentración de ácidos grasos, en concordancia con los resultados obtenidos en este trabajo. Asimismo, Zheng *et al.*, (2008) reportó un gen situado en un QTL asociado a la concentración de aceite y ácido oleico, que codifica para la enzima DGAT1-2 (acyl-CoA: aciltransferasa de diacilglicerol) involucrada en el paso final en la biosíntesis de aceite. Además, informó que una inserción de fenilalanina en esta enzima es responsable del aumento del contenido de aceite y del ácido oleico. Por otra parte, en un estudio de GWAS, Cook *et al.*, (2012) informaron asociaciones entre el contenido de aceite y el

contenido de almidón. Los resultados de estos trabajos ponen en evidencia de que la asociación hallada en este estudio con respecto a la concentración de ácido oleico y linoleico con el rendimiento de etanol se debe a una relación de ligamiento entre el perfil de ácidos grasos y la concentración de almidón. En tal caso la correlación entre el rendimiento de etanol a partir de grano y los porcentajes relativos de ácidos grasos en el aceite podría estar influenciada o mediada por la correlación de la concentración de almidón con la de aceite y el perfil de ácidos grasos.

En relación a las características de calidad de biomasa, las correlaciones entre FDN, FDA y LDA con celulosa y hemicelulosa se deben al método de estimación de celulosa (FDA-LDA) y hemicelulosa (FDN-FDA) por lo que no se abordaron en el texto. Las correlaciones fenotípicas reportadas entre FDA y FDN con la digestibilidad fueron consistentes con las halladas en otros trabajos (Hunt *et al.*, 1992; Wolf *et al.*, 1993). La correlación entre la digestibilidad y la concentración de lignina encontrada en este trabajo fue reducida a pesar de la estrecha relación existente entre ellas. Sin embargo, se ha informado que materiales con similar contenido de lignina presentaron distinta digestibilidad (Méchin *et al.*, 2000) y que la correlación entre la digestibilidad y el contenido de lignina puede variar según el fondo genético del germoplasma evaluado (Barrière *et al.*, 2003). Posiblemente esto se deba a la variabilidad en las proporciones de las diferentes subunidades que conforman a la lignina que provocarían modificaciones en la organización fisicoquímica de la pared celular y consecuentemente la mayor o menor facilidad para la degradación (Truntzler *et al.*, 2010). También debe tenerse en cuenta que las correlaciones pueden variar según la población específica en estudio, ya que depende de la varianza presente. Para los caracteres asociados a las determinaciones química de calidad de biomasa también se reportaron QTLs próximos (Méchin *et al.*, 2001; Krakowsky y Coors 2005; Truntzler *et al.*, 2010; Li *et al.*, 2017) coincidiendo con las altas correlaciones genéticas halladas. Li *et al.* (2017) reportaron una región genómica donde hallaron QTLs próximos para FDA, LDA, FDN y digestibilidad de FDN en el cromosoma 9 y para FDA, LDA y FDN en el cromosoma 8.

Estas regiones próximas o comunes mencionadas que controlan el metabolismo del aceite, almidón, proteína y componentes bioquímicos de la pared celular, ponen en manifiesto la existencia del desequilibrio de ligamiento entre ciertos genes involucrados en la biosíntesis y regulación de la composición química del grano y de la biomasa.

A su vez, se encontró casos particulares en donde la correlación fenotípica resultó nula y se evidencia correlación genotípica estadísticamente significativa. Esto ocurre como consecuencia de que la correlación fenotípica es la suma de dos componentes: genotípico y ambiental. La correlación fenotípica puede ser nula si ambos componentes presentan algún término (heredabilidad, ambientabilidad, correlación ambiental o genotípica) igual a cero ó si ambos componentes tienen el mismo valor con signo opuesto (Falconer y Mackay, 1996).

Las correlaciones significativas entre líneas e híbridos para los caracteres asociados a DQCG y DQCB son semejantes a las reportadas por otros autores como Sharma y Carena (2016) y Argillier *et al* (2000). Estos resultados sugieren que la utilización de la información *per se* de las líneas será eficiente para obtener híbridos con alto rendimiento de etanol a partir de grano y de biomasa. Sin embargo, esta información no es suficiente y se requiere la evaluación de modelos para predecir el comportamiento promedio de la progenie a partir de los valores fenotípicos promedio de los parentales.

## Conclusión

En este apartado se describieron las características funcionales del almidón por sus propiedades térmicas. Se observó que, si bien no se hallaron correlaciones entre el rendimiento de etanol a partir de grano con todas las variables estudiadas de las PTA, se identificaron correlaciones de magnitud intermedia ( $\rho_F = |0,26-0,50|$ ) con temperatura de inicio de retrogradación, entalpía de retrogradación, entalpía de gelatinización, índice de altura del pico de gelatinización y rango de gelatinización. El conocimiento de estos parámetros es fundamental para obtener genotipos a través del mejoramiento genético que puedan ser más eficientes en el proceso industrial de producción de bioetanol de primera generación.

La mayoría de los caracteres de calidad estudiados presentaron correlación línea-híbrido estadísticamente significativa, por lo que es de esperar que haya una preponderancia del control del carácter de tipo aditivo, cruciales para lograr respuesta a la selección.

Con los resultados expuestos se observó que en la producción de bioetanol los genotipos que mostraron mayor rendimiento de etanol (a partir de grano o de biomasa) no presentaron los rendimientos de materia prima (grano o biomasa vegetativa respectivamente) más altos. La correlación no fue estadísticamente significativa entre rendimiento de grano y rendimiento de etanol a partir de grano, pero sí lo fue y de signo negativo entre el rendimiento de etanol a partir de biomasa y el rendimiento de biomasa. Al evaluar la producción de etanol por hectárea en ambos casos se observó que el rendimiento de materia seca predominaba sobre la calidad, por lo que se hace más complejo compatibilizar la selección para ambos caracteres ya que si se emplea una combinación lineal entre estos caracteres se estaría seleccionando por rendimiento de materia seca ( $RG - RB$ ). Para afrontar esta situación y lograr un equilibrio rendimiento-calidad, en base a los resultados obtenidos se propone generar un índice de selección para producción de etanol a partir de grano como carácter objetivo, lo cual resultará una estrategia superior a la selección directa. El índice deberá estar conformado por rendimiento de etanol y/o en su defecto la concentración de almidón o proteína (atributo asociado a las DQCG), relación de molienda o índice de flotación (atributo asociado a DFCEG) y el menor peso otorgárselo al rendimiento de grano (atributo asociado a las CAYP). Para maximizar la producción de etanol a partir de biomasa sin detrimento de la calidad, los esfuerzos deberían enfocarse en incrementar la variabilidad genotípica de los caracteres asociados a DQCB y obtener información del

rendimiento de bioetanol a partir de biomasa de manera independiente de los valores fenotípicos obtenidos de celulosa, hemicelulosa y LDA. Ante los resultados obtenidos y las limitaciones expuestas, queda solo mencionar la importancia de obtener genotipos con altos valores fenotípicos de celulosa y hemicelulosa y bajos valores fenotípicos de lignina. La selección directa de rendimiento de bioetanol no es aconsejable debido a la correlación negativa entre calidad de biomasa y su rendimiento de materia seca por lo que también efectuar un índice de selección es la estrategia con mayor factibilidad.

Otro punto interesante que resulta de esta Tesis es la ausencia de correlación entre caracteres de calidad de química de grano y caracteres de calidad química de biomasa. Esta ausencia de correlación nos permitiría desarrollar un programa de mejoramiento genético de híbridos doble propósito, ya que la respuesta de selección indirecta será nula.

Por lo expuesto, es factible compatibilizar la obtención de genotipos con alto rendimiento de etanol de primera y segunda generación con rendimientos competitivos de su biomasa respectiva (grano y fracción vegetativa) empleando estrategias de selección específicas en cada caso, teniendo como eje central la matriz de correlación genética y la heredabilidad de los caracteres.

### **CAPITULO III**

**ESTIMACIÓN DE PARÁMETROS GENÉTICOS DE CARACTERES  
ASOCIADOS A LA PRODUCCIÓN DE ETANOL A PARTIR DE MAIZ  
EN CINCO AMBIENTES DE LA PROVINCIA DE BUENOS AIRES  
MEDIANTE UN DISEÑO DIALÉLICO**



## Introducción

Para definir una estrategia de mejoramiento con mayor probabilidad de éxito, es crucial la correcta selección de los parentales por conocimiento previo u obtenible aplicando un adecuado diseño genético. Estos proporcionan diferente información de acuerdo a sus características, pero en términos generales contribuyen a conocer el control genético del carácter bajo estudio, a la elección de parentales para generar poblaciones de cría a ser seleccionadas, a desarrollar variedades potenciales y proporcionar estimaciones de ganancia genética (Acquaah, 2009).

Los diseños dialélicos permiten la estimación de los efectos genéticos que controlan al carácter en una población de referencia mediante la elección de un conjunto de líneas progenitoras y la evaluación de sus cruzamientos. Estos diseños emplean los conceptos de habilidad o aptitud combinatoria general y específica definidos por Sprague y Tatum (1942). El concepto de aptitud combinatoria general (ACG) fue empleado para designar al rendimiento medio de una línea en combinaciones híbridas con un grupo determinado de parentales y el concepto de aptitud combinatoria específica (ACE) lo destinaron para explicar que ciertas combinaciones pueden presentar menor o mayor rendimiento promedio de lo que se esperaría sobre la base del rendimiento medio de las líneas involucradas, siendo estas definiciones extensivas a otros caracteres cuantitativos. Además, sentaron las bases para que estas diferencias relativas puedan interpretarse en términos de los distintos tipos de acción génica, estableciendo que un efecto de ACG alto de una línea indicaría que esa línea en particular tiene, en comparación con las otras líneas estudiadas, alta habilidad en combinar con las demás. Entonces gran parte de los efectos de sus genes serían en su mayor medida aditivos para ese carácter. En cambio, efectos altos de ACE indicarían que algunas combinaciones fueron relativamente superiores a lo esperado con respecto a las demás combinaciones estudiadas, por lo que esta superioridad depende en gran medida de los efectos genéticos no aditivos (Hallauer *et al.*, 2010; Sprague y Tatum, 1942).

En 1956, Griffing propuso cuatro métodos básicos de posibles cruas dialélicas cuando estas se disponen en un diseño de bloques completamente aleatorizado, las cuales varían dependiendo de la inclusión de los progenitores y de los cruzamientos recíprocos para estimar efectos recíprocos y maternos (Martínez Garza, 1983).

El modelo lineal general (Griffing, 1956-a y b) es:

$$Y_{ij} = \mu + g_i + g_j + s_{ij} + r_{ij} + e_{ij}$$

$$1 \leq i, j \leq p \quad k = 1, 2, \dots, r$$

Donde  $Y_{ij}$  es el valor fenotípico observado de la craza con los progenitores  $i$  y  $j$ ,  $\mu$  es el efecto común a todas las observaciones;  $g_i$  y  $g_j$  son los efectos de la aptitud combinatoria general de los progenitores  $i$  y  $j$  respectivamente;  $s_{ij}$  es el efecto de la aptitud combinatoria específica de la craza  $(i, j)$ ;  $r_{ij}$  es el efecto recíproco de la craza  $(i, j)$ ; y  $e_{ij}$  es el error experimental aleatorio correspondiente a la observación  $ijk$ .

El modelo lineal del diseño dialélico se extendió teniendo en cuenta los efectos ambientales cuando las cruzaas eran probadas en diferentes ambientes. Las sumas de cuadrados fueron desarrolladas por Singh (1973) y planteó el modelo general a través de ambientes para el método I de Griffing que contempla a las líneas parentales, y los cruzamientos F1 y sus recíprocos. La consideración de múltiples ambientes resulta importante debido a que la presencia de la interacción genotipo por ambiente disminuye la heredabilidad del carácter y hace más complejo el proceso de selección.

Además, cuando existe interacción genotipo por ambiente, el comportamiento de al menos uno de los genotipos respecto al resto de los genotipos evaluados es diferente en cada ambiente (Falconer y Mackay, 1996). Existen varias herramientas estadísticas para abordar esta problemática y poder visualizar los datos provenientes de experimentos efectuados en múltiples ambientes. Estas se basan en el análisis de componentes principales que se representan mediante gráficos *biplots* (Gabriel, 1971).

La elección de genotipos progenitores y la estrategia de mejoramiento es crítica en un programa de mejora. Por tal motivo en este capítulo, se aborda el estudio del tipo de acción génica que controla el rendimiento de bioetanol de primera y segunda generación a partir de maíz y caracteres de calidad y agronómicos relacionados.

## Materiales y métodos

El material genético consistió en cinco líneas endocriadas de maíz desarrolladas por la EEA INTA Pergamino, y sus diez cruzamientos simples F1 posibles en un solo sentido. Estos 10 híbridos en el presente capítulo son mencionados como  $H_{ij}$ , haciendo referencia a la cruza formada por las líneas progenitoras  $L_i$  y  $L_j$  (Tabla 2 y Tabla 3 - Materiales y métodos generales).

El comportamiento fenotípico de las líneas parentales a través de los ambientes se evaluó mediante un análisis de varianza asumiendo un modelo de efectos fijos [1] con el software META-R versión 6.0 (Alvarado *et al.*, 2016).

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \delta_j + \beta(\delta)_{kj} + \alpha\delta_{ij} + \varepsilon_{ijk} \quad [1],$$

donde  $Y_{ijk}$  es la respuesta del genotipo  $i$  para el ambiente  $j$  en la repetición  $k$ ;  $\mu$  es la media general;  $\alpha_i$  es el efecto aleatorio del genotipo  $i$  con  $i = 1, 2, 3, 4, 5$ ;  $\delta_j$  es el efecto fijo del ambiente  $j$  con  $j = 5$ ;  $\beta(\delta)_{kj}$  es el efecto fijo de bloque  $k$  con  $k = 1, 2$  dentro del ambiente  $j$ ;  $\alpha\delta_{ij}$  es el efecto fijo de la interacción del genotipo  $i$  con el ambiente  $j$ ; y  $\varepsilon_{ijk}$  es el término de error aleatorio asociado a la observación  $Y_{ijk}$ .

Las medias ajustadas de las líneas y sus errores estándar fueron graficadas con la biblioteca ggplot2 (Wickham H., 2016) en R versión 3.5.1 (R Core Team, 2018).

Los efectos genéticos determinantes de los caracteres en estudio fueron estimados mediante el diseño dialélico de Griffing métodos II y IV a través de cinco ambientes del norte de la provincia de Buenos Aires con el software AGD-R (2018) Versión 5.0 (Rodríguez *et al.*, 2018).

En este estudio la aplicación del método II contempló la evaluación de las cinco líneas empleadas como parentales y sus diez cruzamientos  $F_1$  y permitió estimar los efectos genéticos de los caracteres asociados a las DQCG, DFCE y DQCB. En cambio, para los caracteres asociados a CAYP se empleó el método IV debido a que sólo se tenía la información de los cruzamientos  $F_1$ .

En todos los casos se aplicó el modelo I de efectos fijos mediante mínimos cuadrados y se obtuvieron los BLUE (el mejor estimador lineal insesgado del inglés *Best Linear Unbiased*

*Estimator*) y los modelos lineales empleados por ambiente [2] y a través de ambientes [3] fueron:

$$Y_{ijn} = \mu + g_i + g_j + s_{ij} + \beta_n + e_{ijk} \quad [2],$$

$$Y_{ijkn} = \mu + \alpha_k + \beta_{n(k)} + g_i + g_j + s_{ij} + (g\alpha)_{ik} + (g\alpha)_{jk} + (s\alpha)_{ijk} + e_{ijkn} \quad [3],$$

donde  $\mu$  es el efecto de la media general;  $\alpha_k$  es el efecto de la  $k$  – ésima localidad;  $\beta_{n(k)}$  es el efecto de la  $n$  – ésima repetición dentro de la  $k$  – ésima localidad;  $g_i$  y  $g_j$  son los efectos de ACG del  $i$  – ésimo y  $j$  – ésimo progenitor respetivamente;  $s_{ij}$  es el efecto de ACE entre los  $i$  – ésimo y  $j$  – ésimo progenitor;  $(g\alpha)_{ik}$  y  $(g\alpha)_{jk}$  son los efectos de ACG del  $i$  – ésimo y  $j$  – ésimo progenitor en la  $k$  – ésima localidad respetivamente;  $(s\alpha)_{ijk}$  es el efecto de ACE entre los  $i$  – ésimo y  $j$  – ésimo progenitor en la  $k$  – ésima localidad; y  $e_{ijn}$  y  $e_{ijkn}$  son el error experimental de las ecuaciones [2] y [3] respetivamente.

El supuesto de normalidad de los residuos fue corroborado de forma gráfica a través de qq-plots (gráfico de residuos vs. valores predichos) mediante la función qqPlots de la biblioteca *DescTools* (Andri et mult. al. S., 2021), y la homogeneidad de varianza fue corroborada mediante el test de Levene con la función Levene.Tes de la biblioteca *car* (Fox et al., 2011), en R versión 3.5.1 (R Core Team, 2018). En todos los casos los niveles de significancias corresponden a (\*)  $p - valor \leq 0.5$ , (\*\*)  $p - valor \leq 0.01$  y (\*\*\*)  $p - valor \leq 0.001$ .

Con el fin de hacer un análisis descriptivo de los efectos de ACG y ACE de las líneas e híbridos obtenidos en cada ambiente [2] se efectuaron análisis de componentes principales (ACP) sobre los efectos de ACG y ACE para los siguientes dos grupos de caracteres: I) DQCG y DFCG y II) DQCB.

Con las coordenadas obtenidas en cada ACP se efectuó un segundo análisis de componentes principales empleando los ambientes como nuevas vectores columnas para representar los efectos conjuntos de ACG y ACE para cada combinación de genotipo y ambiente. Estos análisis se realizaron mediante la biblioteca *FactoMineR* (Le et al., 2008) de R versión 3.5.1 (R Core Team, 2018).

Se comparó el comportamiento promedio de los híbridos  $F_1$  respecto al comportamiento promedio de sus parentales para todos los grupos de caracteres (con excepción de las características agronómicas y productivas) mediante el diseño de regresión padre medio-

progenie y con R versión 3.5.1 (R Core Team, 2018) con el programa STAD-R Versión 3.0 (Pacheco *et al.*, 2016) siguiendo el modelo [4]:

$$Y_{ij} = \beta_0 + \beta_1 X_{\frac{i+j}{2}} + \varepsilon_{ij} \quad [4],$$

siendo  $Y_{ij}$  el comportamiento del híbrido formado por los parentales  $i$  y  $j$ ,  $\beta_0$  el intercepto de la regresión,  $\beta_1$  la pendiente, interpretada como la heredabilidad del carácter,  $X_{\frac{i+j}{2}}$  el comportamiento promedio de los parentales  $i - j$ , y  $\varepsilon_{ij}$  el error experimental asociado a la observación  $Y_{ij}$ .

La presencia de heterosis respecto del padre medio y del mejor padre (heterobeltiosis) se determinó a partir de los BLUPs obtenidos separadamente para líneas e híbridos en los análisis de varianzas combinados a través de ambientes [5] empleando modelos lineales mixtos y el método de máxima verosimilitud restringida (REML) del programa META-R versión 6.0 (Alvarado *et al.*, 2016). Los efectos de genotipos fueron considerados aleatorios y los de repeticiones y ambientes como fijos.

El modelo ajustado fue:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \delta_j + \beta(\delta)_{kj} + \alpha\delta_{ij} + \varepsilon_{ijk} \quad [5],$$

donde  $Y_{ijk}$  es la respuesta del genotipo  $i$  para el ambiente  $j$  en la repetición  $k$ ;  $\mu$  es la media general;  $\alpha_i$  es el efecto aleatorio del genotipo  $i$  con  $i = 1, \dots, 25$  para híbridos y  $i = 1, \dots, 5$  para líneas;  $\delta_j$  es el efecto fijo de del ambiente  $j$  con  $j = 1, \dots, 5$ ;  $\beta(\delta)_{kj}$  es el efecto fijo de bloque  $k$  con  $k = 1, 2$  dentro del ambiente  $j$ ;  $\alpha\delta_{ij}$  es el efecto aleatorio de la interacción del genotipo  $i$  con el ambiente  $j$ ; y  $\varepsilon_{ijk}$  es el término de error aleatorio asociado a la observación  $Y_{ijk}$ .

El nivel de heterosis se calculó respecto al promedio de los padres [6] y a partir del progenitor superior [7] mediante el programa AGD-R (2015) Versión 2.0 (Pacheco *et al.*, 2016).

$$H = \frac{H_{ij} - \left[ \frac{L_i + L_j}{2} \right]}{\frac{L_i + L_j}{2}} \times 100 \quad [6] \quad H_b = \frac{H_{ij} - L_b}{L_b} \times 100 \quad [7],$$

Donde,  $\frac{P_i + P_j}{2}$  es el promedio de los progenitores  $L_i$  y  $L_j$  del híbrido  $H_{ij}$  y  $L_b$  es el progenitor de mayor valor fenotípico promedio para el carácter evaluado.

## Resultados

Los resultados se dividieron en cuatro secciones: Evaluación fenotípica de las líneas parentales, Identificación de los cruzamientos con mayor productividad de bioetanol por hectárea, Comportamiento relativo del promedio de líneas parentales y sus híbridos F1 mediante análisis de regresión padre-progenie y estimación de niveles de heterosis y Análisis dialélicos

### 1. Evaluación fenotípica de las líneas parentales

Los análisis de varianza combinados a través de ambientes de las líneas parentales (siguiendo el modelo [1]) permitió constatar que las mismas difieren entre si ( $p - valor \leq 0,001$ ) para todas las características evaluadas, con excepción de digestibilidad *in vitro* de fibra detergente neutro ( $p - valor > 0,05$ ). Se observó interacción genotipo por ambiente ( $p - valor < 0,05$ ) para relación de molienda, índice de flotación, fibra detergente neutro, fibra detergente ácido, celulosa y hemicelulosa y rendimiento de etanol a partir de biomasa (Tabla 3.1).

El comportamiento de las líneas a través de los ambientes se puede visualizar en los gráficos de perfiles de las medias ajustadas obtenidas en el análisis de varianza ( $\pm$  un error estándar), Figura 3.1 y 3.2.

En la Figura 3.1 se observa que la línea  $L_3$  (LP29) presentó las mayores concentraciones de almidón y amilosa, seguida por las líneas  $L_1$  (LP2542) y  $L_2$  (LP661) respectivamente. Las líneas con menor concentración proteica fueron  $L_3$  (LP29) y  $L_1$  (LP2542). Las líneas  $L_2$  (LP661),  $L_4$  (LP923) y  $L_5$  (LP214) mostraron menor concentración de almidón y mayor concentración de proteínas (Figura 3.1.a – c) y se caracterizaron, en general, por sus altos valores de peso hectolítrico, relación de molienda y densidad de grano y bajos índices de flotación. Contrariamente, la línea  $L_1$  presentó en todos los ambientes los menores pesos hectolítricos, relaciones de molienda y densidades de grano, pero los mayores valores de índices de flotación (Figura 3.1 d-e-f). En relación al rendimiento de etanol de grano, en el análisis de varianza, no se detectó interacción genotipo por ambiente y revelaron que las líneas  $L_1$  (LP2542) y  $L_3$  (LP29) produjeron los mayores rendimientos de etanol a partir de grano (Figura 3.1 h).

En la Figura 3.2 se observó que las líneas  $L_1$  (LP2542),  $L_3$  (LP29) y  $L_5$  (LP214) se caracterizaron por presentar las mayores concentraciones FDN, FDA y menores

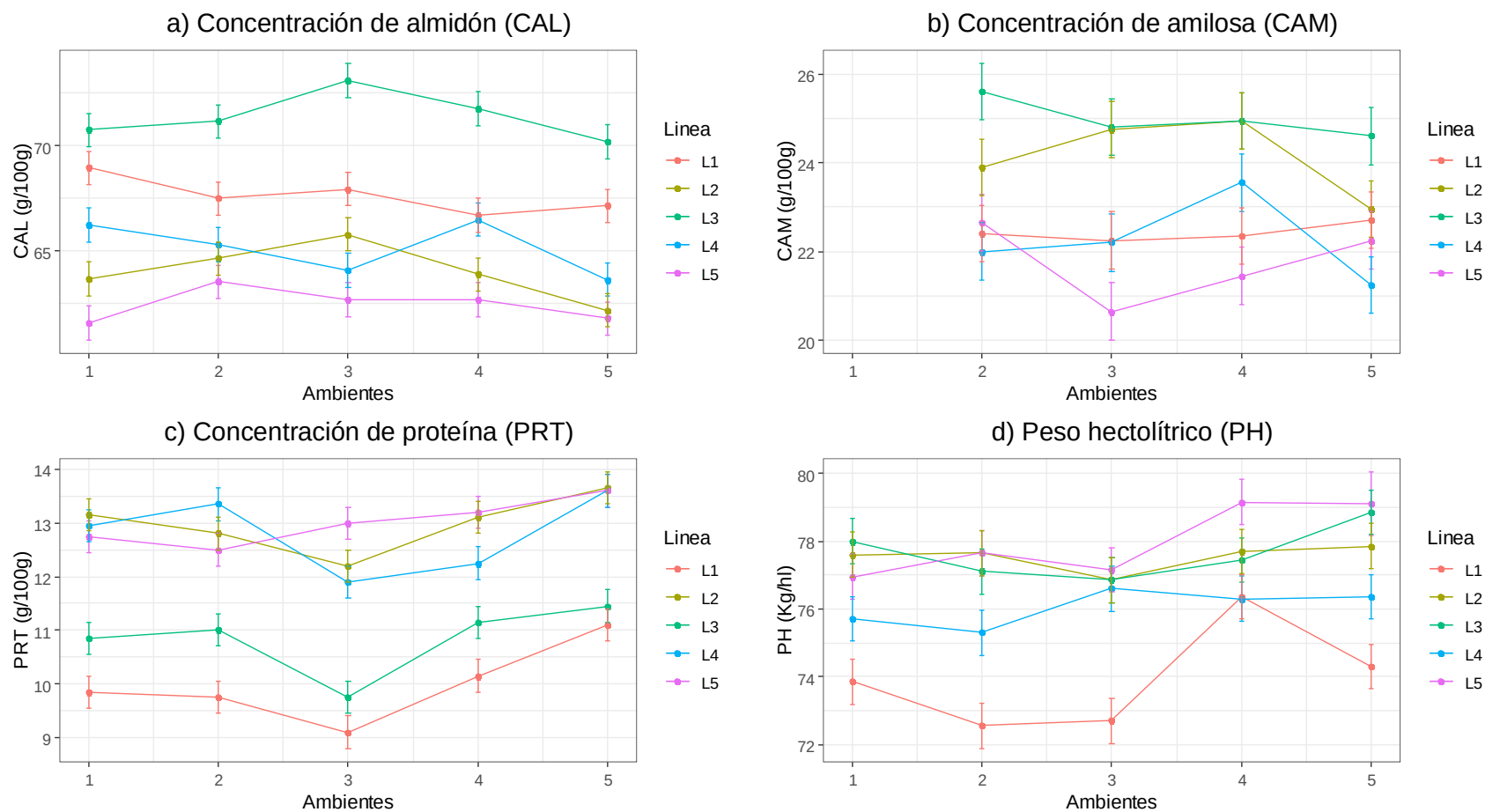
concentraciones de LDA, comportamiento opuesto al de las líneas L<sub>2</sub> (LP661) y L<sub>4</sub> (LP923) (mayor LDA y menor FDN y FDA (Figura 3.2 a - c)). Los mayores rendimientos de etanol a partir de biomasa fueron obtenidos por las líneas L<sub>1</sub> y L<sub>5</sub> (Figura 3.2 h). Estas líneas determinadas como promisorias para la obtención de bioetanol de segunda generación también mostraron las mayores concentraciones de carbohidratos fermentables, celulosa y hemicelulosa (Figura 3.2 d - e).

**Tabla 3.2.** Cuadrados medios (CM) del análisis de varianza a través de ambientes (Amb) y su significancia de cinco líneas endocriadas evaluadas en Colón (2015-16), Junín (2015-16 y 2016-17) y Pergamino (2015-16 y 2016-17) para determinaciones químicas y físicas de calidad de grano y determinaciones químicas de calidad de biomasa.

| Variable (Unidad)                                              | CM Líneas                    | CM Líneas x Amb             | Error  |
|----------------------------------------------------------------|------------------------------|-----------------------------|--------|
| Concentración de almidón (g.100.g <sup>-1</sup> )              | <b>121,60<sup>***</sup></b>  | 1.86 <sup>ns</sup>          | 1.28   |
| Concentración de amilosa <sup>†</sup> (g.100.g <sup>-1</sup> ) | <b>15,28<sup>***</sup></b>   | 1.12 <sup>ns</sup>          | 0.81   |
| Concentración de proteína (g.100.g <sup>-1</sup> )             | <b>19,99<sup>***</sup></b>   | 0.27 <sup>ns</sup>          | 0.18   |
| Concentración de aceite (g.100.g <sup>-1</sup> )               | <b>2,98<sup>***</sup></b>    | 0.04 <sup>ns</sup>          | 0.03   |
| Ácido palmítico (g.100.g <sup>-1</sup> )                       | <b>16,49<sup>***</sup></b>   | 0.64 <sup>ns</sup>          | 0.33   |
| Ácido esteárico (g.100.g <sup>-1</sup> )                       | <b>2,00<sup>***</sup></b>    | 0.12 <sup>ns</sup>          | 0.06   |
| Ácido oleico (g.100.g <sup>-1</sup> )                          | <b>311,38<sup>***</sup></b>  | 16.70 <sup>ns</sup>         | 15.86  |
| Ácido linoleico (g.100.g <sup>-1</sup> )                       | <b>454,06<sup>***</sup></b>  | 22.87 <sup>ns</sup>         | 19.29  |
| Ácido linolénico (g.100.g <sup>-1</sup> )                      | <b>0,85<sup>***</sup></b>    | 0.03 <sup>ns</sup>          | 0.04   |
| Peso hectolítrico (kg.hL <sup>-1</sup> )                       | <b>27,27<sup>***</sup></b>   | 1.17 <sup>ns</sup>          | 0.88   |
| Relación de molienda (g.g <sup>-1</sup> )                      | <b>14,52<sup>***</sup></b>   | <b>0.78<sup>*</sup></b>     | 0.30   |
| Índice de flotación (%)                                        | <b>3410,49<sup>***</sup></b> | <b>184.84<sup>**</sup></b>  | 56.77  |
| Densidad de grano (g.ml <sup>-1</sup> )                        | <b>0,01<sup>***</sup></b>    | 0.00 <sup>ns</sup>          | 0.00   |
| Fibra Detergente Neutro (g.100.g <sup>-1</sup> )               | <b>83,00<sup>***</sup></b>   | <b>8.16<sup>***</sup></b>   | 2.11   |
| Fibra Detergente Ácido (g.100.g <sup>-1</sup> )                | <b>50,20<sup>***</sup></b>   | <b>3.75<sup>***</sup></b>   | 1.17   |
| Lignina Detergente Ácido (g.100.g <sup>-1</sup> )              | <b>0,78<sup>***</sup></b>    | 0.18 <sup>ns</sup>          | 0.11   |
| Hemicelulosa (g.100.g <sup>-1</sup> )                          | <b>7,53<sup>***</sup></b>    | <b>2.23<sup>***</sup></b>   | 0.56   |
| Celulosa (g.100.g <sup>-1</sup> )                              | <b>47,64<sup>***</sup></b>   | <b>3.66<sup>**</sup></b>    | 1.13   |
| Digestibilidad in vitro de la fibra (%)                        | <b>35,05<sup>***</sup></b>   | 3.95 <sup>ns</sup>          | 2.24   |
| Digestibilidad de FDN (% <sup>1</sup> )                        | 8,03 <sup>ns</sup>           | 4.46 <sup>ns</sup>          | 4.02   |
| Rendimiento de etanol –grano –NIRS (IMg <sup>-1</sup> )        | <b>1947,75<sup>***</sup></b> | 84.54 <sup>ns</sup>         | 118.57 |
| Rendimiento de etanol – biomasa (IMg <sup>-1</sup> )           | <b>4052.00<sup>***</sup></b> | <b>426.77<sup>***</sup></b> | 107.21 |

<sup>ns</sup> No significativa; <sup>\*</sup>Significativa; a un nivel de probabilidad de 0,05; <sup>\*\*</sup> Significancia a un nivel de probabilidad de 0,01; <sup>\*\*\*</sup> Significancia a un nivel de probabilidad de 0.001. <sup>†</sup> no se evaluó en Colón 2015-16.

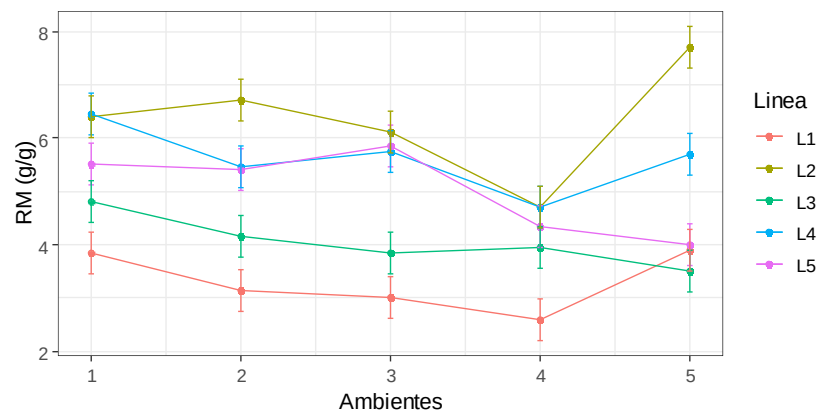
**Figura 3.1.** Medias ajustadas de cinco líneas endocriadas para las determinaciones químicas y físicas de calidad de granos en los siguientes ambientes de evaluación: 1) Colón 2015-16; 2) Junín 2015-16; 3) Pergamino 2015-16; 4) Junín 2016-17; 5) Pergamino 2016-17.



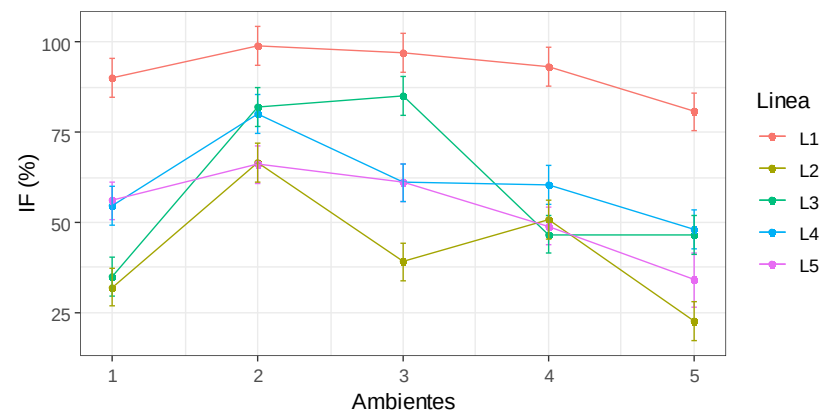


**Figura 3.1.** Continuación.

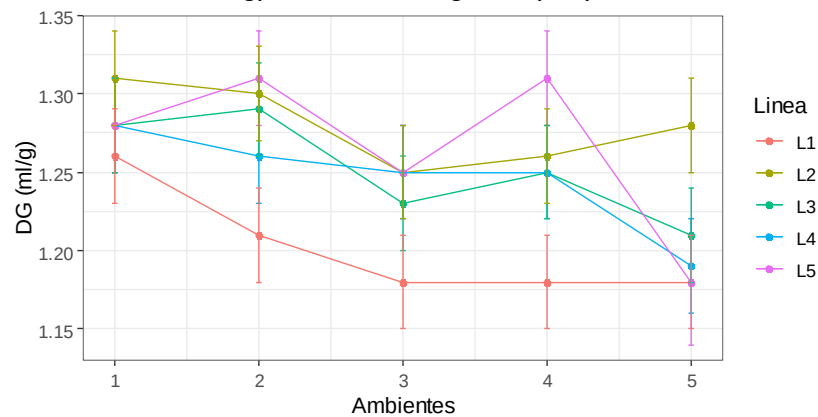
**e) Relación de molienda (RM)**



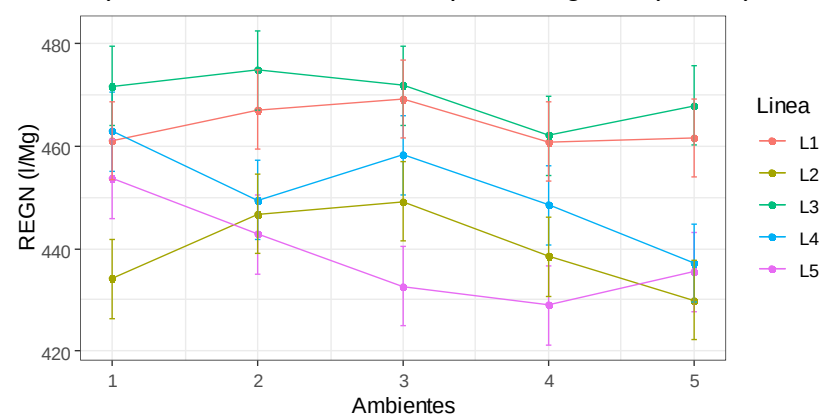
**f) Índice de flotación (IF)**



**g) Densidad de grano (DG)**

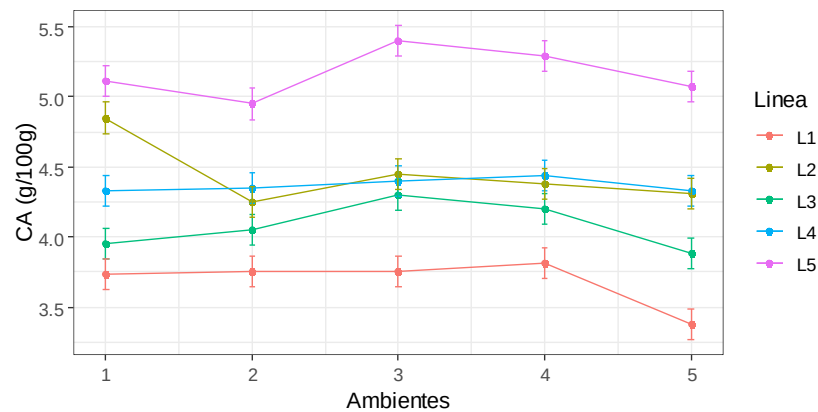


**h) Rendimiento de etanol a partir de grano (REGN)**

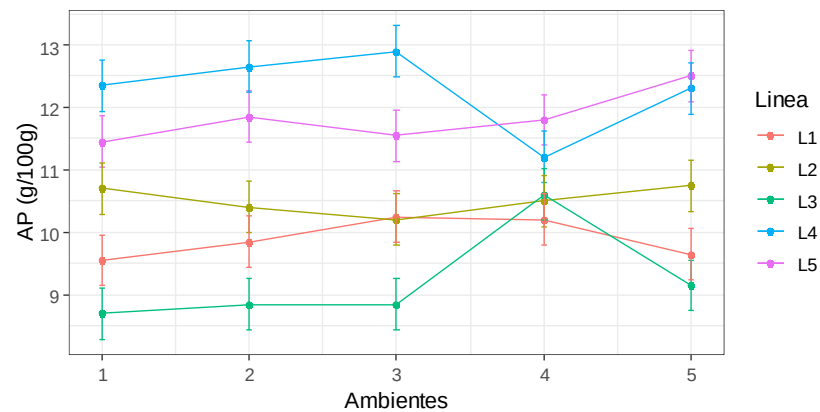


**Figura 3.1 (Continuación)**

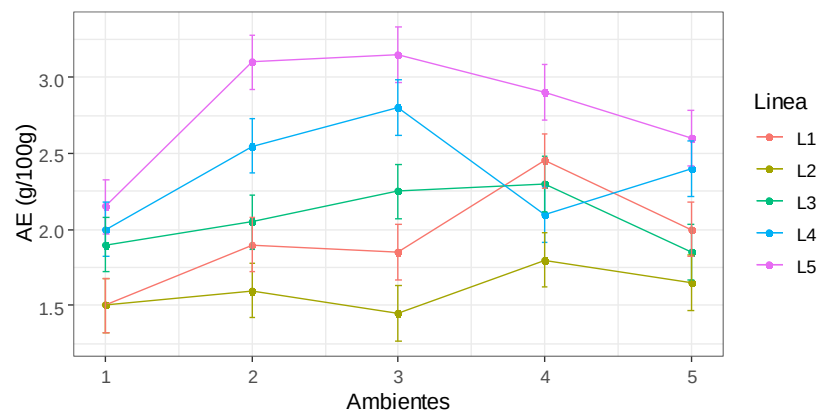
**i) Concentración de aceite (CA)**



**j) Ácido palmítico (AP)**



**k) Ácido esteárico (AE)**



**l) Ácido oleico (AO)**

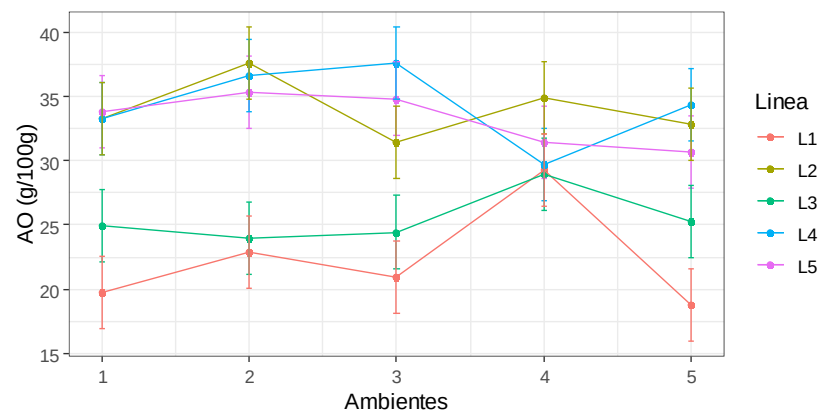
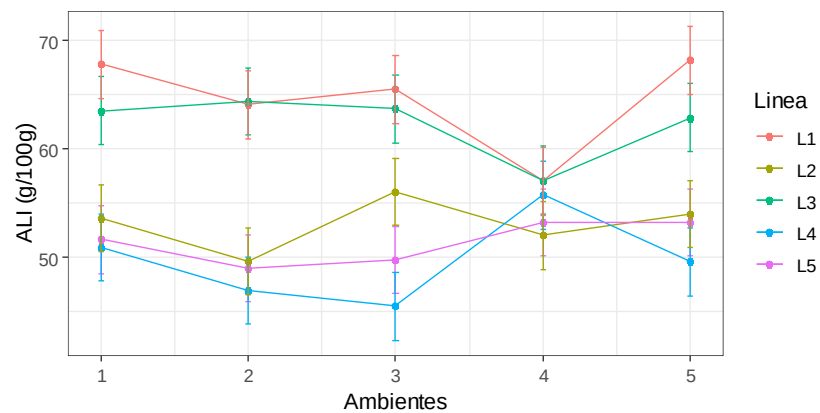
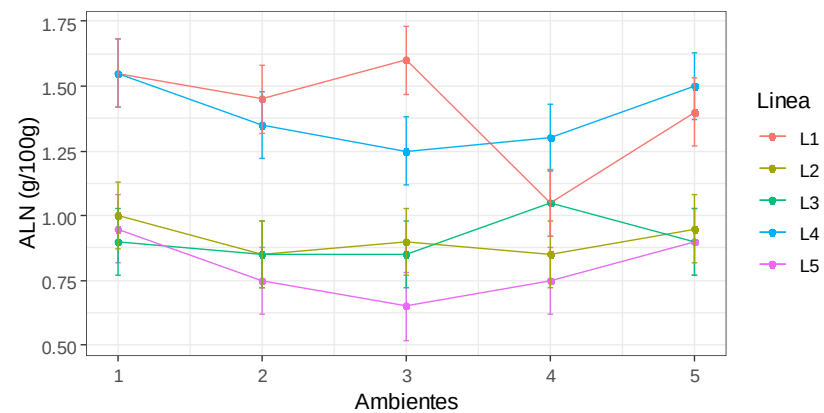


Figura 3.1 (Continuación)

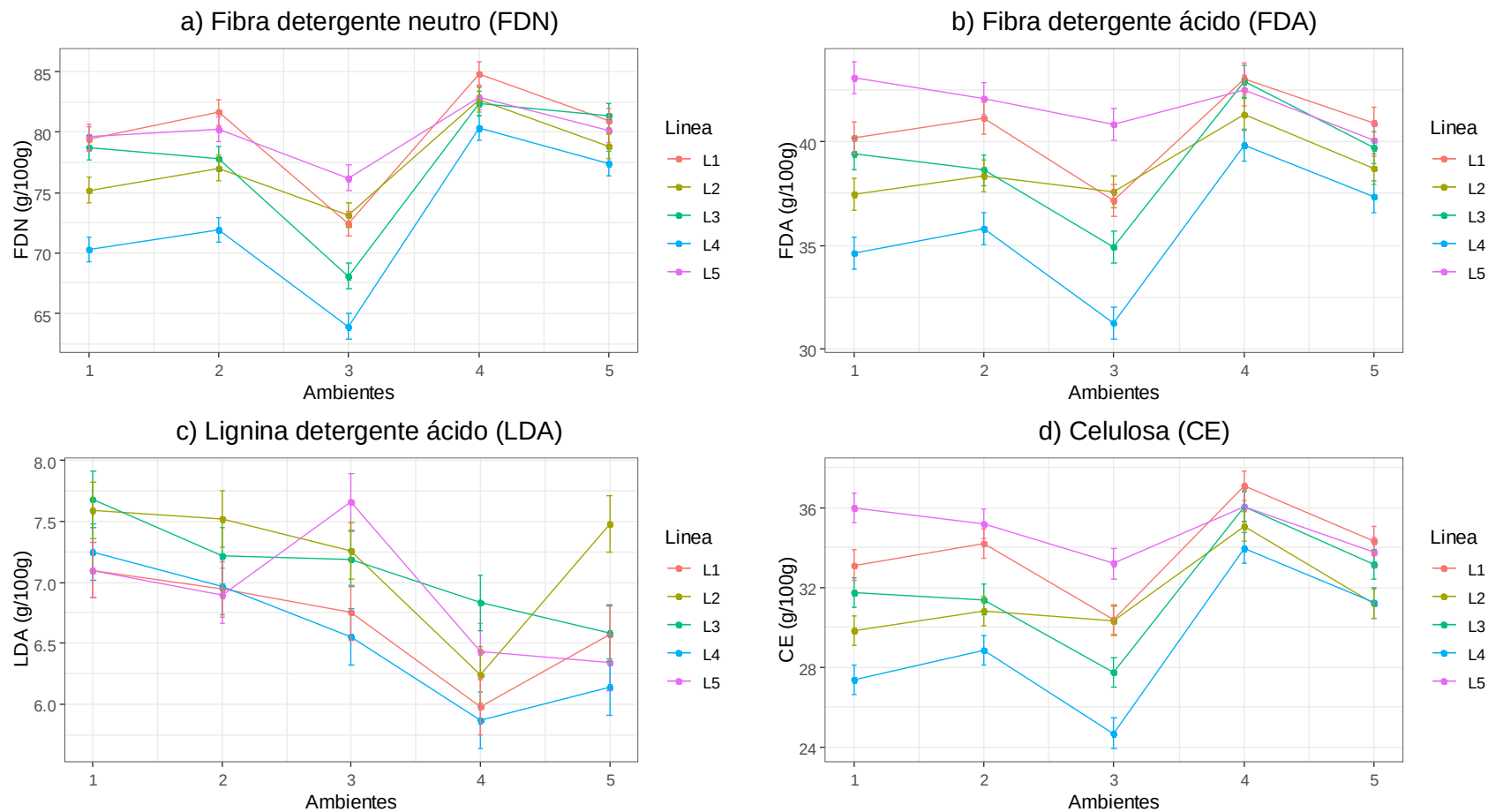
m) Ácido linoleico (ALI)



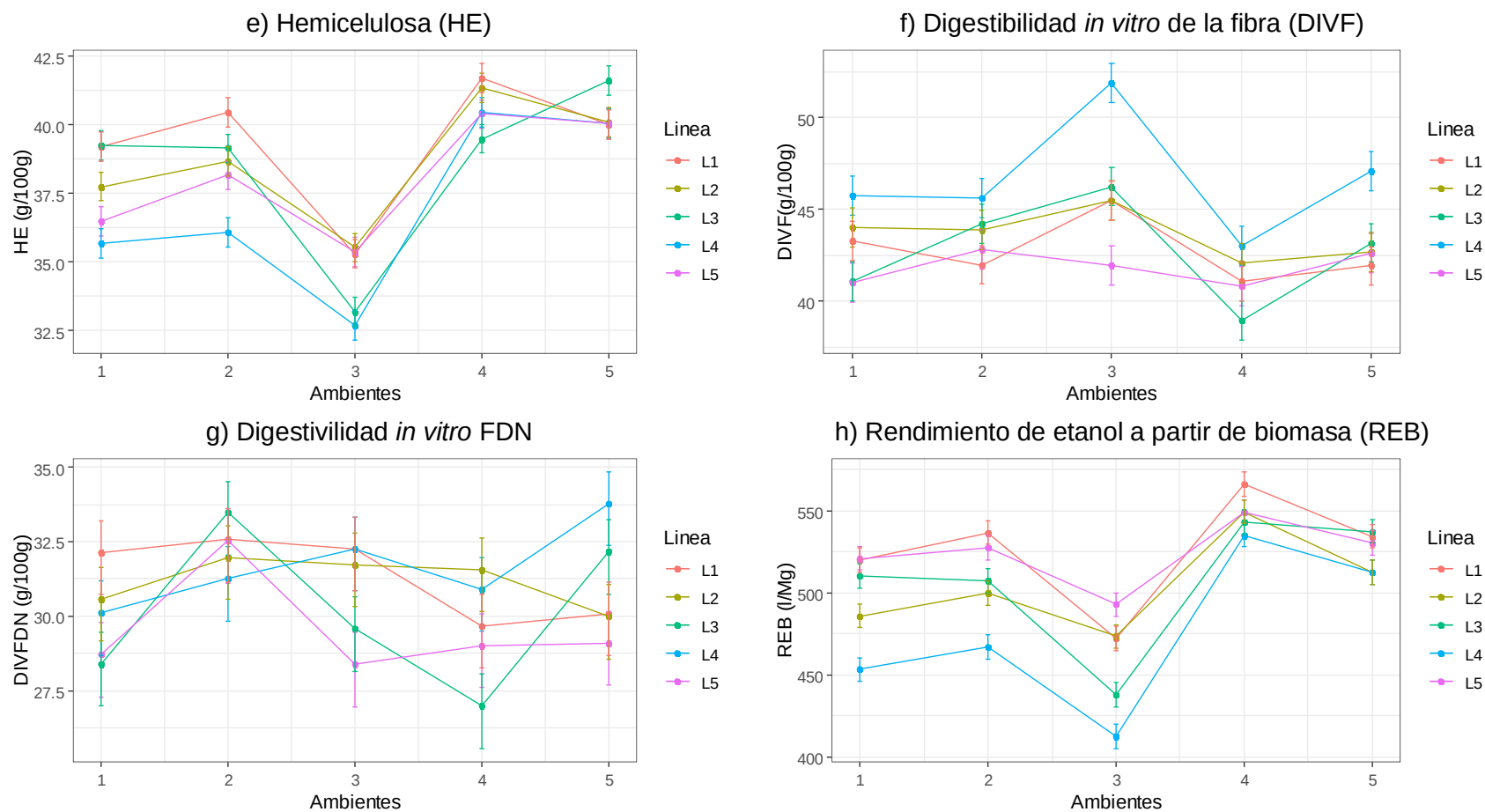
n) Ácido linolénico (ALN)



**Figura 3.2.** Medias ajustadas de cinco líneas endocriadas para las determinaciones químicas de calidad de biomasa en los siguientes ambientes de evaluación: 1) Colón 2015-16; 2) Junín 2015-16; 3) Pergamino 2015-16; 4) Junín 2016-17; 5) Pergamino 2016-17



**Figura 3.2.** Medias ajustadas de cinco líneas endocriadas para las determinaciones químicas de calidad de biomasa en los siguientes ambientes de evaluación: 1) Colón 2015-16; 2) Junín 2015-16; 3) Pergamino 2015-16; 4) Junín 2016-17; 5) Pergamino 2016-17



2. Identificación de los cruzamientos con mayor productividad de bioetanol por hectárea.

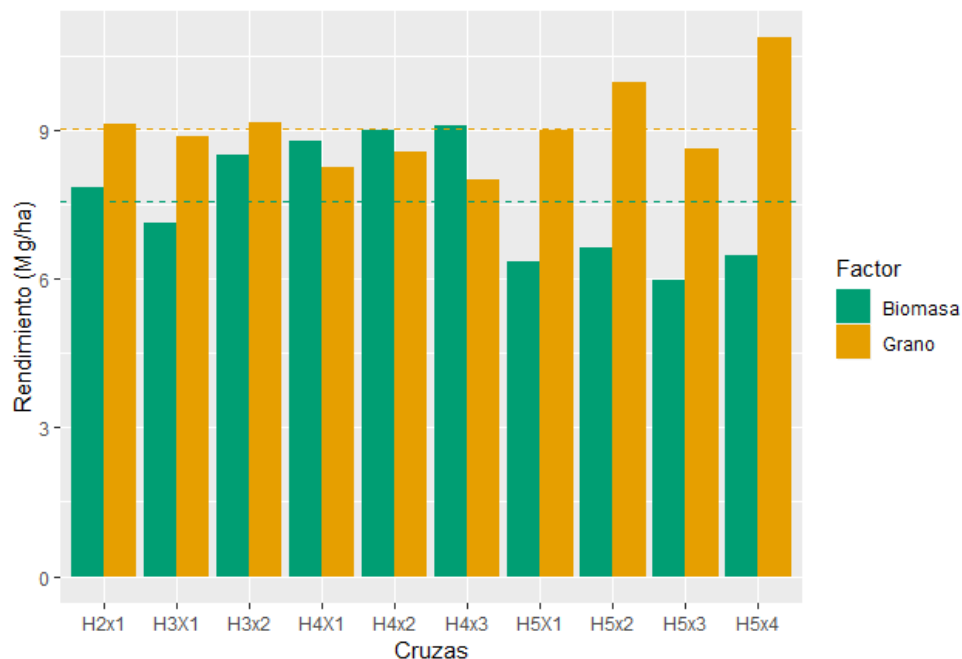
Se identificaron los híbridos que presentaron a través de ambientes mayores valores fenotípicos para el rendimiento de grano y de etanol a partir de grano y de rendimiento de biomasa vegetativa y de etanol a partir de biomasa (Figura 3.3).

Los híbridos  $H_{2 \times 1}$ ,  $H_{3 \times 2}$ ,  $H_{5 \times 2}$  y  $H_{5 \times 4}$  presentaron rendimientos de grano superiores a la media general. En cuanto al rendimiento de etanol de grano los híbridos que sobrepasaron a la media general fueron  $H_{2 \times 1}$ ,  $H_{3 \times 1}$ ;  $H_{4 \times 1}$ ,  $H_{4 \times 3}$ ,  $H_{5 \times 1}$  y  $H_{5 \times 3}$ .

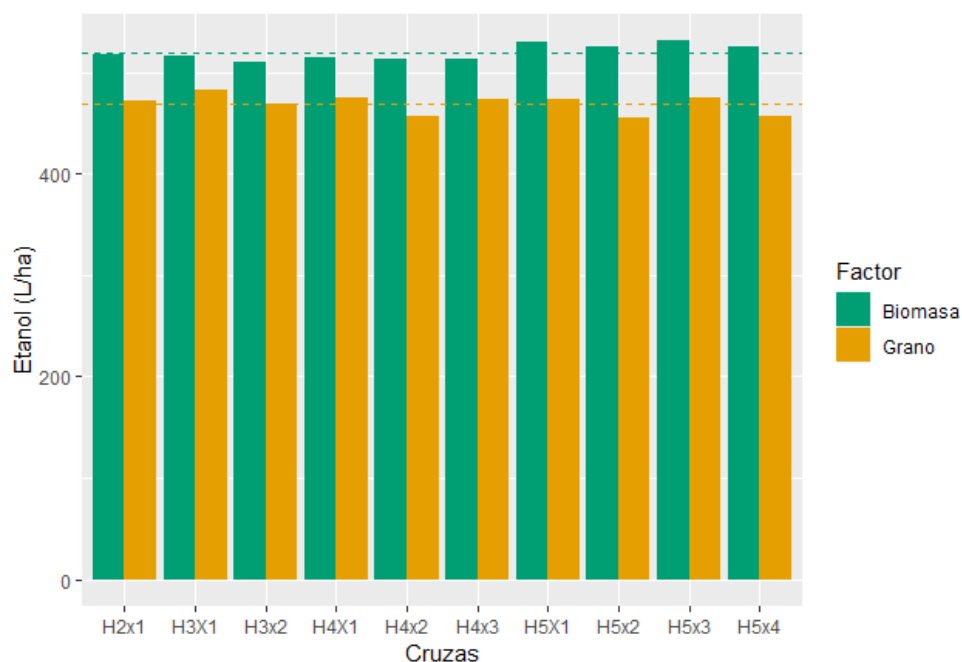
Con respecto a la producción o rendimiento de biomasa, los genotipos  $H_{2 \times 1}$ ,  $H_{3 \times 2}$ ,  $H_{4 \times 1}$ ,  $H_{4 \times 2}$  y  $H_{4 \times 3}$  mostraron comportamientos superiores a la media general. Pese a ello, ninguno de esos híbridos integró el grupo de los que exhibieron rendimientos de etanol a partir de biomasa superiores al promedio ( $H_{5 \times 1}$ ,  $H_{5 \times 2}$ ,  $H_{5 \times 3}$  y  $H_{5 \times 4}$ ).

**Figura 3.3.** Evaluación de la productividad por hectárea estimada a partir del análisis de varianza a través de ambientes.

a) Rendimiento de materia prima



b) Rendimiento de etanol



Las líneas rectas punteadas indican la media general para cada variable

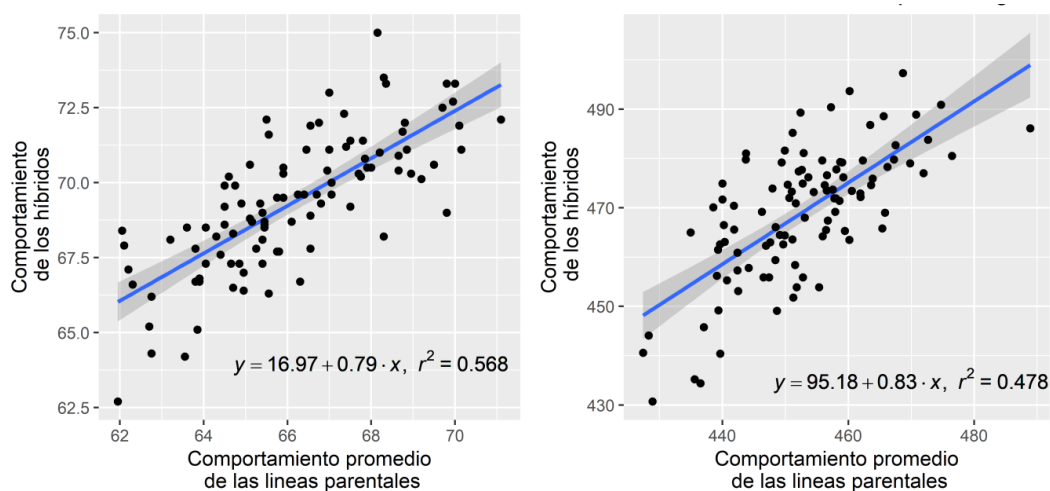
### 3. Comportamiento relativo del promedio de líneas parentales y sus híbridos F1 mediante análisis de regresión padre progenie y estimación de niveles heterosis

#### 3.1. Caracteres asociados a las determinaciones químicas de calidad de grano (DQCG) y determinaciones físicas de calidad de grano (DFCG).

- Regresión padre-progenie

Los caracteres concentración de almidón y de amilosa, rendimiento de etanol a partir de grano, índice de flotación y relación de molienda se ajustaron al modelo lineal de regresión [4] y cumplieron los supuestos de distribución normal y de homogeneidad de varianza de los residuales. Los modelos explicaron el 56,7 %, 19,0 %, 47,8 %, 28,0 % y 36% de la varianza total, respectivamente ( $r^2$ ). Las rectas de regresión y la ecuación del ajuste para la concentración de almidón y rendimiento de etanol a partir de grano se presentan en la Figura 3.4. En ambos casos alrededor del 50 % de la variabilidad de los valores fenotípicos de la progenie pudo ser explicada por el valor fenotípico promedio de los parentales, por lo que existe una alta proporción de efectos aditivos. Esto se ve reflejado en el coeficiente de la recta de regresión que se interpreta como la heredabilidad del carácter. La concentración de proteína y de aceite presentaron pendientes mayores a uno debido a que los padres presentaron valores fenotípicos mayores que la progenie y en consecuencia no fueron tenidos en cuenta para abordarlos con esta metodología.

**Figura 3.4.** Estimación del comportamiento medio de los híbridos a través del comportamiento promedio de sus líneas progenitoras para la concentración de almidón ( $\text{g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ ) a la izquierda y el rendimiento de etanol a partir de grano ( $\text{l} \cdot \text{Mg}^{-1}$ ) a la derecha.



En la gráfica se muestra la ecuación de regresión y la varianza explicada ( $r^2$ ), en azul la recta de regresión y en gris el intervalo de confianza al 95%.



- Heterosis a partir del promedio de las líneas parentales (*Heterosis* –  $H$ )

Para las concentraciones de almidón, proteína y aceite, rendimiento de etanol a partir de grano, peso hectolítrico, relación de molienda y densidad de grano, la  $H$  resultó estadísticamente significativa ( $p - valor \leq 0,1$ ) en al menos uno de los cruzamientos evaluados (Tabla 3.3).

La concentración de almidón presentó valores de  $H$  significativos para todos los cruzamientos que oscilan entre 3,3 y 6,2 %. El mayor porcentaje de  $H$  para este carácter lo presentó el cruzamiento  $H_{5 \times 2}$  (LP214 x LP661). Sin embargo, éste mostró baja concentración de almidón promedio (67,2 g.100g<sup>-1</sup>). Los cruzamientos con mayor concentración de almidón promedio (71 g.100g<sup>-1</sup>), entre ellos  $H_{3 \times 1}$  (LP29 x LP2542) y  $H_{4 \times 3}$  (LP923 x LP29), presentaron aproximadamente una  $H$  del 4%. Para la concentración de proteína los porcentajes de  $H$  fueron de signo negativo, por lo que los híbridos mostraron detrimento en este carácter con respecto al promedio de los parentales y el rango de  $H$  estuvo comprendido entre -14,9 y -22,5 %. Los híbridos con concentración de proteína elevada (mayor a 10 g.100g<sup>-1</sup>) mostraron niveles de  $H$  entre el -14,9 y -19,1 %, a diferencia de los híbridos con concentración de proteína baja (menor a 9 g.100g<sup>-1</sup>) que mostraron niveles de  $H$  superiores a -20%. La concentración de aceite presentó un nivel de  $H$  promedio del 16% en todos los híbridos, sin tener en cuenta los cruzamientos  $H_{3 \times 2}$  (LP29 x LP661) y  $H_{2 \times 1}$  (LP661 x LP2542) que presentaron valores extremos, 26,3 y 8,3 % respectivamente. Los rangos de  $H$  para rendimiento de etanol a partir de grano fueron menores al 5%. El mayor nivel de heterosis para rendimiento de etanol a partir de grano lo presentó el cruzamiento  $H_{5 \times 1}$  (LP214 x LP2542 - 4,9 %) con un rendimiento de etanol a partir de grano de 473,4 l.Mg<sup>-1</sup>. El cruzamiento  $H_{3 \times 1}$  (LP29 x LP2542) presentó el rendimiento de etanol a partir de grano más alto (481,7 l.Mg<sup>-1</sup>) con un nivel de  $H$  de 3,3%:

La  $H$  para peso hectolítrico sólo fue estadísticamente significativa ( $p - valor \leq 0,1$ ) en el cruzamiento  $H_{5 \times 3}$  (LP214 x LP29) y fue de -2%. Este híbrido presentó un peso hectolítrico de 76,1 kg.hl<sup>-1</sup>. Con respecto a relación de molienda, los niveles de  $H$  hallados estuvieron comprendidos entre el -15 y -31%. El mayor nivel de  $H$ , para este carácter, lo presentó el cruzamiento con mayor rendimiento de etanol a partir de grano ( $H_{3 \times 1}$ , LP29 x LP2542) y la menor  $H$  lo presentó el cruzamiento con menor rendimiento de etanol a partir de grano ( $H_{4 \times 2}$ , LP923 x LP661). Para densidad de grano solo se observó  $H$  en los cruzamientos  $H_{3 \times 2}$  (LP29

x LP661),  $H_{5 \times 3}$  (LP214 x LP29),  $H_{5 \times 2}$  (LP214 x LP661) y  $H_{4 \times 2}$  (LP923 x LP661) y los valores estuvieron entre -1,8 y -2,4 %.

- Heterosis a partir del progenitor mayor ( $H_b$ )

La  $H_b$  resultó estadísticamente significativa ( $p - valor \leq 0,1$ ) en al menos uno de los cruzamientos para todos los caracteres evaluados (Tabla 3.3).

La concentración de amilosa mostró  $H_b$  sólo en  $H_{5 \times 3}$  (LP214 x LP29) y fue del 6%. Para la concentración de almidón se observó  $H_b$  (3,0 - 4,9 %) en cruzamientos que mostraron valores menores a 70 g.100.g<sup>-1</sup> con la excepción del cruzamiento  $H_{4 \times 1}$  (LP923 x LP2542). En general, para la concentración de proteína, los niveles de  $H_b$  fueron mayores a los niveles de  $H$  en todos los cruzamientos para este carácter. El mayor porcentaje de  $H_b$  (-31,4%) estuvo dado por  $H_{5 \times 1}$  que a su vez presentó una concentración de proteína inferior a 9,0 g.100.g<sup>-1</sup>. Los menores porcentajes de  $H_b$  estuvieron dados en los híbridos con concentraciones de proteína mayores a 10 g.100.g<sup>-1</sup>. El cruzamiento  $H_{5 \times 2}$  (LP214 x LP661) fue el único que presentó  $H_b$  para el rendimiento de etanol a partir de grano, pero resultó ser el cruzamiento con menor valor fenotípico promedio para este carácter. La concentración de aceite mostró  $H_b$  para la mayoría de los híbridos, en un rango comprendido entre 6,5 – 21,0 %. En cambio, los ácidos grasos evaluados mostraron  $H_b$  sólo en algunos de los cruzamientos y de signo negativo (Tabla 3.3).

Dentro de las  $H_b$  observadas en las DFCG, el peso hectolítrico fue del -2 % en los cruzamientos  $H_{5 \times 1}$  (LP214 x LP2542) y  $H_{2 \times 1}$  (LP661 x LP2542). Para relación de molienda se observó  $H_b$  en todos los híbridos y sus valores fueron negativos (-41,4 a -18,6 %) y mayores a la  $H$ . Para índice de flotación los cruzamientos  $H_{3 \times 1}$  (LP29 x LP2542),  $H_{5 \times 1}$  (LP214 x LP2542),  $H_{4 \times 1}$  (LP923 x LP2542) y  $H_{2 \times 1}$  (LP661 x LP2542) presentaron  $H_b$  de 17 al 29 %.

**Tabla 3.3** Porcentaje (%) de heterosis a partir del promedio de los padres  $H$  (1° fila) y a partir del progenitor superior  $H_b$  (2° fila) y el BLUP (3° fila) a través de ambientes de cada uno de diez híbridos para características asociadas a las determinaciones químicas de calidad de grano y determinaciones físicas de calidad de los granos.

| Híbridos /<br>Caracteres                                  | 1<br>$H_{3 \times 2}$ | 2<br>$H_{3 \times 1}$ | 3<br>$H_{4 \times 3}$ | 4<br>$H_{5 \times 3}$ | 5<br>$H_{5 \times 2}$ | 6<br>$H_{5 \times 1}$ | 7<br>$H_{5 \times 4}$ | 8<br>$H_{4 \times 2}$ | 9<br>$H_{4 \times 1}$ | 10<br>$H_{2 \times 1}$ |
|-----------------------------------------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|------------------------|
| Concentració<br>n de amilosa<br>(g.100g <sup>-1</sup> )   | -                     | -                     | -                     | -                     | -                     | -                     | -                     | -                     | -                     | -                      |
|                                                           | 24,41                 | 23,63                 | 23,64                 | -6,03                 | 23,36                 | 23,73                 | 23,03                 | 22,56                 | 23,53                 | 22,97                  |
| Concentració<br>n de almidón<br>(g.100g <sup>-1</sup> )   | 3,34                  | <b>3,51</b>           | <b>4,20</b>           | <b>4,66</b>           | <b>6,19</b>           | <b>5,84</b>           | <b>5,18</b>           | <b>4,38</b>           | <b>5,47</b>           | <b>5,80</b>            |
|                                                           | 69,96                 | 71,91                 | 71,11                 | 70,03                 | 67,22                 | 68,87                 | 67,16                 | 67,46                 | 70,03                 | 69,67                  |
| Concentració<br>n de aceite<br>(g.100g <sup>-1</sup> )    | <b>26,33</b>          | <b>14,08</b>          | <b>16,25</b>          | <b>16,68</b>          | <b>16,91</b>          | <b>17,75</b>          | <b>15,93</b>          | <b>15,35</b>          | <b>15,50</b>          | 8,35                   |
|                                                           | <b>21,14</b>          | <b>8,67</b>           | <b>12,41</b>          | -                     | <b>8,89</b>           | -                     | <b>7,12</b>           | <b>14,36</b>          | 6,57                  | -0,82                  |
|                                                           | 5,38                  | 4,43                  | 4,91                  | 5,38                  | 5,61                  | 5,21                  | 5,52                  | 5,08                  | 4,65                  | 4,41                   |
| Concentració<br>n de proteína<br>(g.100g <sup>-1</sup> )  | <b>-14,94</b>         | <b>-21,28</b>         | <b>-16,63</b>         | <b>-21,94</b>         | <b>-18,35</b>         | <b>-22,51</b>         | <b>-19,13</b>         | <b>-15,91</b>         | <b>-18,23</b>         | <b>-16,96</b>          |
|                                                           | <b>-21,86</b>         | <b>-24,32</b>         | <b>-22,96</b>         | <b>-28,37</b>         | <b>-18,44</b>         | <b>-31,39</b>         | <b>-19,74</b>         | <b>-16,46</b>         | <b>-27,12</b>         | <b>-26,41</b>          |
|                                                           | 10,13                 | 8,21                  | 9,86                  | 9,31                  | 10,60                 | 8,92                  | 10,43                 | 10,83                 | 9,33                  | 9,54                   |
| Ácido<br>palmítico<br>(g.100g <sup>-1</sup> )             | -                     | -                     | <b>-15,15</b>         | <b>-15,07</b>         | -9,63                 | <b>-10,37</b>         | -                     | -                     | -                     | -                      |
|                                                           | 9,82                  | 9,47                  | 10,38                 | 10,02                 | 10,66                 | 10,57                 | 12,31                 | 11,53                 | 11,38                 | 9,95                   |
| Ácido<br>esteárico<br>(g.100g <sup>-1</sup> )             | -                     | -                     | -                     | -                     | -                     | -                     | -                     | -                     | -                     | -                      |
|                                                           | -                     | -                     | -                     | -                     | <b>-26,36</b>         | <b>-18,89</b>         | -                     | -                     | -                     | -                      |
|                                                           | 2,02                  | 1,98                  | 2,23                  | 2,50                  | 2,02                  | 2,22                  | 2,53                  | 2,05                  | 2,17                  | 1,80                   |
| Ácido oleico<br>(g.100g <sup>-1</sup> )                   | -                     | -                     | -                     | -                     | -                     | -                     | -                     | -                     | -                     | -                      |
|                                                           | 29,86                 | 23,25                 | 29,76                 | 29,33                 | 34,74                 | 28,85                 | 35,07                 | 34,61                 | <b>-18,53</b>         | <b>-18,98</b>          |
|                                                           |                       |                       |                       |                       |                       |                       |                       |                       | 27,77                 | 27,37                  |
| Ácido<br>linoleico<br>(g.100g <sup>-1</sup> )             | -                     | -                     | -                     | -                     | -                     | <b>-10,50</b>         | -                     | -                     | -                     | -                      |
|                                                           | 57,40                 | 64,28                 | 56,61                 | 57,34                 | 51,62                 | 57,36                 | 48,94                 | 50,65                 | 57,39                 | 59,89                  |
| Ácido<br>linolénico<br>(g.100g <sup>-1</sup> )            | -                     | -                     | -25,95                | -                     | -                     | -26,30                | -25,27                | -21,20                | -                     | -23,63                 |
|                                                           | 0,88                  | 1,15                  | 1,02                  | 0,84                  | 0,89                  | 1,03                  | 1,03                  | 1,09                  | 1,30                  | 1,07                   |
| Rendimiento<br>de etanol -<br>grano (l.Mg <sup>-1</sup> ) | -                     | 3,37                  | -                     | 4,47                  | -                     | <b>4,89</b>           | -                     | -                     | 3,69                  | <b>4,47</b>            |
|                                                           | 469,1                 | 481,7                 | 472,9                 | 474,3                 | 456,6                 | 473,4                 | 458,3                 | 457,2                 | 474,1                 | 472,0                  |
|                                                           | 1                     | 0                     | 3                     | 5                     | 3                     | 4                     | 6                     | 7                     | 6                     | 2                      |
| Peso<br>hectolítico<br>(kg.hl <sup>-1</sup> )             | -                     | -                     | -                     | -2,06                 | -                     | -                     | -                     | -                     | -                     | -                      |
|                                                           | -                     | -                     | -                     | -                     | -                     | -2,24                 | -                     | -                     | -                     | <b>-2,93</b>           |
|                                                           | 76,76                 | 74,89                 | 76,54                 | 76,15                 | 76,75                 | 76,14                 | 76,45                 | 76,15                 | 76,01                 | 75,22                  |
| Relación de<br>molienda (g.g <sup>-1</sup> )              | -20,82                | <b>-32,62</b>         | -22,05                | -21,36                | <b>-21,65</b>         | -20,48                | -                     | -15,11                | -20,03                | <b>-24,07</b>          |
|                                                           | <b>-34,44</b>         | <b>-38,45</b>         | <b>-32,38</b>         | <b>-28,56</b>         | <b>-29,37</b>         | <b>-33,39</b>         | -18,68                | -19,68                | <b>-35,72</b>         | <b>-41,44</b>          |
|                                                           | 4,09                  | 2,52                  | 3,77                  | 3,58                  | 4,41                  | 3,34                  | 4,53                  | 5,01                  | 3,58                  | 3,65                   |
| Índice de<br>flotación (%)                                | -                     | -                     | -                     | -                     | -                     | -                     | -                     | -                     | -                     | -                      |
|                                                           | -                     | -17,44                | -                     | -                     | -                     | -26,72                | -                     | -                     | -29,65                | -28,60                 |
|                                                           | 62,22                 | 74,59                 | 66,86                 | 61,13                 | 59,22                 | 66,20                 | 62,41                 | 63,09                 | 63,56                 | 64,50                  |
| Densidad de<br>grano (g.ml <sup>-1</sup> )                | <b>-2,17</b>          | -                     | -                     | <b>-2,44</b>          | -1,81                 | -                     | -                     | <b>-2,14</b>          | -                     | -                      |
|                                                           | <b>-3,17</b>          | <b>-3,44</b>          | -                     | <b>-3,19</b>          | <b>-2,07</b>          | <b>-2,18</b>          | <b>-2,03</b>          | <b>-3,28</b>          | -                     | <b>-3,28</b>           |
|                                                           | 1,23                  | 1,21                  | 1,24                  | 1,23                  | 1,25                  | 1,24                  | 1,24                  | 1,23                  | 1,23                  | 1,23                   |

Se omiten las heterosis y heterobeltiosis con un valor de probabilidad asociado menor a un  $\alpha$ : 0,1 y se resaltaron en negra aquellos significativos a un  $\alpha$ : 0,05

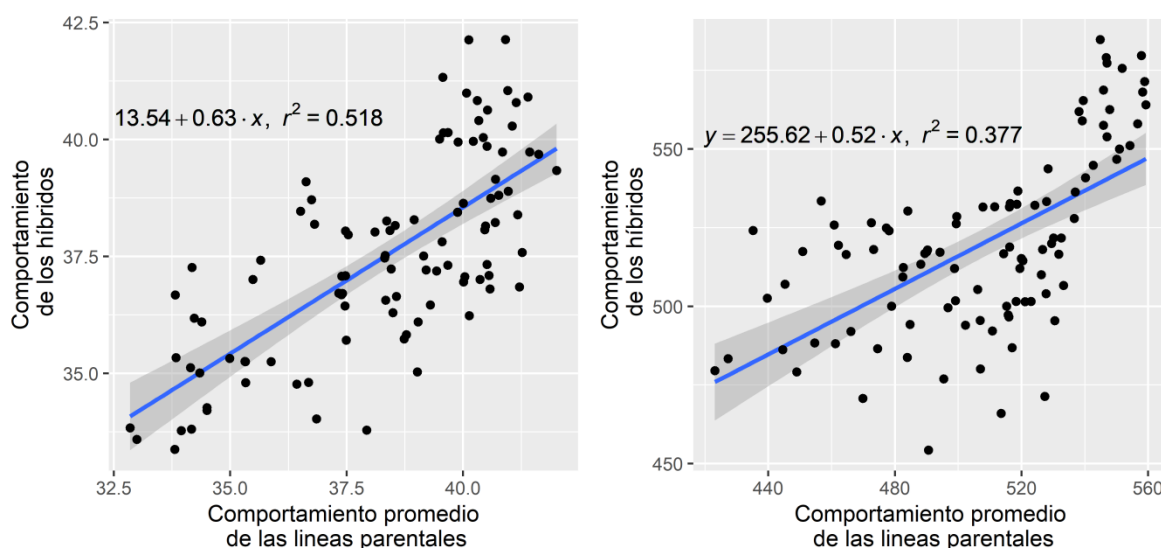
### 3.2. Caracteres asociados a las determinaciones químicas de calidad de biomasa

- Regresión padre progenie

El valor fenotípico de los híbridos de los caracteres asociados a DQCB no resultó en general, ser suficientemente explicado por el comportamiento promedio de las líneas parentales. Las rectas de regresión para FDN, FDA, celulosa, hemicelulosa y rendimiento de etanol a partir de biomasa, explicaron 29,6 %; 13,0 %; 25,0 %; 51,8 % y 37,7 % de la variabilidad total, respectivamente. Los valores observados para los demás caracteres de calidad química de biomasa no cumplieron los supuestos de normalidad de los residuos y homogeneidad de varianza, y la variabilidad explicada por el modelo de regresión fue menor que 10% y, por lo que fueron desestimadas.

Las rectas de regresión para hemicelulosa y rendimiento de etanol a partir de biomasa (Figura 3.5) indican que la proporción de la varianza aditiva en relación a la varianza fenotípica en ambos casos fue mayor a 0,5.

**Figura 3.5.** Estimación del comportamiento medio de los híbridos a través del comportamiento promedio de sus líneas progenitoras para la concentración de hemicelulosa ( $\text{g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ ) a la izquierda y el rendimiento de etanol a partir de biomasa ( $\text{l} \cdot \text{Mg}^{-1}$ ) a la derecha.



En la gráfica se muestra la ecuación de regresión y la varianza explicada ( $r^2$ ), en azul la recta de regresión y en gris el intervalo de confianza al 95%.

- Heterosis a partir del promedio de las líneas parentales ( $H$ )

La  $H$  resultó estadísticamente significativa ( $p - valor \leq 0,1$ ) en al menos uno de los cruzamientos para FDN, FDA, celulosa, digestibilidad *in vitro* de FDN y rendimiento de etanol a partir de biomasa (Tabla 3.4). Se hallaron niveles de  $H$  menores al 5% para FDN en los cruzamientos  $H_{4 \times 3}$  (LP923 x LP29),  $H_{5 \times 4}$  (LP214 x LP923),  $H_{4 \times 2}$  (LP923 x LP661),  $H_{4 \times 1}$  (LP923 x LP2542) y para rendimiento de etanol a partir de biomasa para los cruzamientos  $H_{4 \times 3}$  (LP923 x LP29),  $H_{5 \times 4}$  (LP214 x LP923),  $H_{4 \times 2}$  (LP923 x LP661). Los niveles de  $H$  se situaron entre 5 y 10% para FDA en todos los híbridos (excepto para el cruzamiento  $H_{5 \times 1}$ ) y para celulosa en los cruzamientos  $H_{3 \times 2}$  (LP29 x LP661),  $H_{5 \times 3}$  (LP214 x LP29),  $H_{5 \times 2}$  (LP214 x LP661),  $H_{4 \times 1}$  (LP923 x LP2542) y  $H_{2 \times 1}$  (LP661 x LP2542). Las  $H$  mayores al 10% correspondieron a los híbridos  $H_{4 \times 3}$  (LP923 x LP29),  $H_{5 \times 4}$  (LP214 x LP923) y  $H_{4 \times 2}$  (LP923 x LP661) para celulosa y por  $H_{5 \times 2}$  (LP214 x LP661),  $H_{4 \times 1}$  (LP923 x LP2542) y  $H_{2 \times 1}$  (LP661 x LP2542) para digestibilidad de FDN.

Los híbridos  $H_{5 \times 2}$  (LP214 x LP661) y  $H_{5 \times 1}$  (LP214 x LP2542), no presentaron  $H$  estadísticamente significativa ( $p - valor \leq 0,1$ ) para ninguna de las DQCB.

- Heterobeltiosis, heterosis a partir del progenitor mayor ( $H_b$ )

La  $H_b$  resultó estadísticamente significativa ( $p - valor \leq 0,1$ ) en al menos uno de los cruzamientos para FDA, celulosa, hemicelulosa, digestibilidad *in vitro* de la fibra y digestibilidad de FDN (Tabla 3.4).

Para FDA, se observaron niveles de  $H_b$  comprendidos entre 1,2 y 5,9%. Los cruzamientos con FDA mayor a 42 g.100g<sup>-1</sup> mostraron los niveles de  $H_b$  menores al 2%. Los niveles de  $H_b$  para celulosa variaron entre 6,5 y 11,9%, los cruzamientos con nivel de  $H_b$  mayor al 10% fueron  $H_{4 \times 3}$ ,  $H_{5 \times 4}$  y  $H_{4 \times 2}$  con medias ajustadas de 34,4; 35,3 y 34,0 g.100.g<sup>-1</sup>, respectivamente. Los niveles de  $H_b$  para hemicelulosa y digestibilidad *in vitro* de la fibra resultaron de signo negativo, -3,9 y -5,9 % respectivamente en los cruzamientos  $H_{5 \times 1}$  (LP214 x LP2542),  $H_{4 \times 1}$  (LP923 x LP2542) y  $H_{2 \times 1}$  (LP661 x LP2542) para hemicelulosa y para digestibilidad *in vitro* de la fibra en los cruzamientos  $H_{5 \times 4}$  (LP214 x LP923) y  $H_{4 \times 2}$  (LP923 x LP661). Los niveles de  $H_b$  para digestibilidad de FDN fueron similares a los niveles de  $H$  y se hallaron en el mismo grupo de híbridos.

**Tabla 3.4.** Porcentaje (%) de heterosis a partir del promedio de los padres (1° fila) y a partir del progenitor superior (2° fila) y el BLUP (3° fila) a través de ambientes de cada uno de diez híbridos evaluados en para características asociadas a las determinaciones químicas de calidad de biomasa.

| Híbrido                 | 1                | 2                | 3                | 4                | 5                | 6                | 7                | 8                | 9                | 10               |
|-------------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| Caracter                | H <sub>3x2</sub> | H <sub>3x1</sub> | H <sub>4x3</sub> | H <sub>5x3</sub> | H <sub>5x2</sub> | H <sub>5x1</sub> | H <sub>5x4</sub> | H <sub>4x2</sub> | H <sub>4x1</sub> | H <sub>2x1</sub> |
| Fibra                   | -                | -                | 4,45             | -                | -                | -                | 4,16             | <b>4,79</b>      | 3,14             | -                |
| detergente              | -                | -                | -                | -                | -                | -                | -                | -                | -                | -                |
| neutro                  | -                | -                | -                | -                | -                | -                | -                | -                | -                | -                |
| (g.100g <sup>-1</sup> ) | 78,80            | 79,09            | 78,80            | 79,89            | 79,51            | 79,88            | 79,59            | 78,91            | 78,82            | 78,96            |
| Fibra                   | <b>6,22</b>      | 4,82             | <b>9,86</b>      | 5,03             | 4,85             | -                | <b>8,79</b>      | <b>9,74</b>      | <b>8,16</b>      | 4,75             |
| detergente              | -                | -                | <b>5,51</b>      | 1,99             | 1,29             | -                | <b>1,58</b>      | <b>5,93</b>      | <b>2,31</b>      | 2,56             |
| ácido                   | -                | -                | -                | -                | -                | -                | -                | -                | -                | -                |
| (g.100g <sup>-1</sup> ) | 41,35            | 41,69            | 41,29            | 42,36            | 42,08            | 42,43            | 42,19            | 41,02            | 41,34            | 41,44            |
| Lignina                 | -                | -                | -                | -                | -                | -                | -                | -                | -                | -                |
| detergente              | -                | -                | -                | -                | -                | -                | -                | -                | -                | -                |
| ácido                   | -                | -                | -                | -                | -                | -                | -                | -                | -                | -                |
| (g.100g <sup>-1</sup> ) | 7,13             | 7,00             | 6,86             | 6,88             | 6,81             | 7,00             | 6,90             | 7,00             | 6,76             | 6,67             |
| Celulosa                | 7,64             | -                | <b>11,93</b>     | 6,45             | 6,60             | -                | <b>10,12</b>     | <b>11,53</b>     | <b>9,46</b>      | 6,59             |
| (g.100g <sup>-1</sup> ) | 6,76             | -                | 7,41             | -                | -                | -                | -                | <b>7,87</b>      | -                | -                |
|                         | 34,21            | 34,68            | 34,42            | 35,50            | 35,27            | 35,44            | 35,30            | 34,01            | 34,58            | 34,77            |
| Hemicelulosa            | -                | -                | -                | -                | -                | -                | -                | -                | -                | -                |
| (g.100g <sup>-1</sup> ) | -                | -3,91            | -                | -                | -                | -3,91            | -                | -                | -3,91            | -3,91            |
|                         | 37,51            | 37,51            | 37,51            | 37,51            | 37,51            | 37,51            | 37,51            | 37,51            | 37,51            | 37,51            |
| Digestibilidad          | -                | -                | -                | -                | -                | -                | -                | -                | -                | -                |
| in vitro de la          | -                | -                | -                | -                | -                | -                | -                | -                | -                | -                |
| fibra                   | -                | -                | -                | -                | -                | -                | -5,99            | -5,97            | -                | -                |
| (g.100g <sup>-1</sup> ) | 43,18            | 43,44            | 43,49            | 43,17            | 44,11            | 43,28            | 43,55            | 43,56            | 44,66            | 44,61            |
| Digestibilidad          | -                | -                | -                | -                | 13,13            | -                | -                | -                | 11,25            | 11,26            |
| in vitro de             | -                | -                | -                | -                | 11,81            | -                | -                | -                | 10,99            | 11,12            |
| FDN                     | -                | -                | -                | -                | -                | -                | -                | -                | -                | -                |
| (g.100g <sup>-1</sup> ) | 31,07            | 31,57            | 31,29            | 32,05            | 34,60            | 32,49            | 33,15            | 33,01            | 34,60            | 34,47            |
| Rendimiento             | -                | -                | 4,87             | -                | -                | -                | 4,25             | <b>5,18</b>      | -                | -                |
| de bioetanol            | -                | -                | -                | -                | -                | -                | -                | -                | -                | -                |
| – biomasa               | -                | -                | -                | -                | -                | -                | -                | -                | -                | -                |
| (l.Mg <sup>-1</sup> )   | 516,28           | 518,64           | 517,40           | 524,26           | 522,15           | 523,65           | 522,23           | 517,53           | 517,98           | 519,22           |

#### 4. Análisis dialélico

##### 4.1. Caracteres asociados a las determinaciones químicas de calidad de grano y determinaciones físicas de calidad de grano

El análisis de varianza por mínimos cuadrados del diseño genético de Griffing (Tabla 3.5), mostró que la interacción genotipo por ambiente fue no significativa ( $p - valor > 0,05$ ) para la concentración de almidón y amilosa, ácidos palmítico, oleico, linoleico y linolénico, densidad de grano y rendimiento de etanol a partir de grano. Se observó que, para la concentración de amilosa, ácido oleico, linoleico y linolénico las diferencias entre los genotipos fueron dadas por los efectos de *ACG* ( $p - valor < 0.001$ ), a diferencia de los caracteres concentración de almidón, aceite y ácido palmítico, densidad de grano y rendimiento de etanol a partir de grano cuyas diferencias se deben a los efectos de *ACG* y *ACE* ( $p - valor < 0,05$ ). Siendo preponderante los efectos de *ACG* ya que el índice de Baker presentó valores en un rango de 0,87 a 0,99.

El resto de los caracteres presentaron interacción genotipo por ambiente estadísticamente significativas ( $p - valor < 0,05$ ). El componente significativo ( $p - valor < 0,05$ ) de la interacción para la concentración de proteína y aceite, relación de molienda e índice de flotación, estuvo dado por los efectos de *ACE*, y para ácido esteárico estuvo dado por los efectos de *ACG*. Sólo el peso hectolítrico mostró ambos efectos *ACE x ambiente* y *ACG x ambiente* significativos ( $p - valor < 0,05$ ), mostrando cierto nivel de preponderancia ( $IB = 0.69$ ) de los efectos *ACE x ambiente* sobre *ACG x ambiente*. Los efectos estimados a través de ambientes de *ACG* y *ACE* para las líneas y los híbridos se muestran en la Tabla 3.6.

Las líneas  $L_1$  (LP2542) y  $L_3$  (LP29) resultaron promisorias como parentales de híbridos para la obtención de bioetanol de primera generación. Estas líneas contribuyeron aumentando las concentraciones de almidón, ácido linoleico y linolénico y disminuyendo las concentraciones de proteína, aceite, ácido oleico y esteárico. La excepción a ello se dio con  $L_3$  (LP29) cuyo *ACG* es negativo para la concentración de ácido linolénico. Ambas líneas,  $L_1$  (LP2542) y  $L_3$  (LP29) presentaron efectos de *ACG* elevados y positivos para el rendimiento de etanol a partir de grano. En cuanto a la dureza del endospermo,  $L_1$  (LP2542) presentó efectos de *ACG* que contribuyeron a granos con endospermo más suave o de tipo harinoso, aumentando por un lado el índice de flotación y disminuyendo por el otro la relación de molienda, el peso hectolítrico y la densidad promedio. En la línea  $L_3$  (LP29) no se

observaron efectos significativos en cuanto al índice de flotación, pero sí efectos que contribuyen a disminuir la relación de molienda y la densidad de grano y aumentar el peso hectolítrico. En relación a la concentración de amilosa, solo  $L_3$  (LP29) y  $L_2$  (LP661) mostraron efectos positivos de *ACG*.

Con respecto a los híbridos  $F_1$  (Tabla 3.6), los mayores efectos positivos de *ACE* para concentración de almidón se observaron en  $H_{3 \times 2}$  (LP29 x LP661) y  $H_{5 \times 1}$  (LP214 x LP2542) y los mayores efectos negativos de *ACE* para concentración de proteína en  $H_{5 \times 3}$  (LP214 x LP29) y  $H_{5 \times 1}$  (LP214 x LP2542). Para el rendimiento de etanol a partir de grano, todos los cruzamientos presentaron efectos positivos de *ACE*, (los efectos negativos estuvieron dados solo por el cruzamiento de la línea consigo misma o autocruzamiento como lo establece el método II de Griffing, (omitidos en la Tabla 3.6) y el mayor efecto estuvo dado por  $H_{5 \times 1}$  (LP214 x LP2542) y  $H_{2 \times 1}$  (LP661 x LP2542). Estos cruzamientos no presentaron efectos significativos ( $p - valor > 0,1$ ) de *ACE* para las determinaciones físicas de calidad de grano, excepto para peso hectolítrico ( $H_{5 \times 1} > 0$  y  $H_{2 \times 1} < 0$ ). Los híbridos  $H_{3 \times 1}$  (LP29 x LP2542) y  $H_{4 \times 2}$  (LP923 x LP661) presentaron efectos positivos de *ACE* para índice de flotación, a diferencia de  $H_{4 \times 1}$  que fue negativo ( $p - valor < 0,1$ ). En general todos los cruzamientos presentaron efectos de *ACE* estadísticamente significativos ( $p - valor < 0,1$ ) para al menos una de las determinaciones de la calidad física del grano, que implican mayor dureza del endospermo, con excepción de  $H_{4 \times 1}$  (LP923 x LP2542) y  $H_{5 \times 1}$  (LP214 x LP2541).

Las contribuciones de los efectos de *ACG* de cada parental y del efecto de *ACE* del cruzamiento para las DQCG se pueden visualizar en la Figura 3.6 y para las DFCG en la Figura 3.7. Las barras representan los efectos de *ACG* de cada parental y *ACE* del cruzamiento en función a la totalidad de los desvíos que en conjunto con la media conforman el valor fenotípico de cada híbrido.



**Tabla 3.5.** Cuadrados medios del análisis de varianza a través de localidades para características químicas de calidad y propiedades físicas de los granos según el diseño dialéctico de Griffing (1956), método II de efectos fijos para los caracteres concentración de amilosa (CAM), almidón (CAL), proteína (PRT) y aceite (CA), ácidos palmítico (AP), esteárico (AE), oleico (AO), linoleico (ALI) y linolénico, peso hectolítrico (PH), relación de molienda (RM), índice de flotación (IF), densidad de grano (DG) y rendimiento de etanol a partir de grano (REGN).

| FV       | GL | CAM                       | GL | CAL                         | PRT                       | CA                        | AP                        | AE                        | AO                          | ALI                         | ALN                       | PH                        | RM                        | IF                           | DG                           | REGN                         |
|----------|----|---------------------------|----|-----------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|-----------------------------|-----------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| Unidad   | -  | g.100.g <sup>-1</sup>     | -  | g.100.g <sup>-1</sup>       |                           |                           |                           |                           |                             |                             |                           | Kg.hL <sup>-1</sup>       | g.g <sup>-1</sup>         | %                            | g.mL <sup>-1</sup>           | L.Mg <sup>-1</sup>           |
| Amb      | 3  | 1,61 <sup>ns</sup>        | 4  | <b>26,76<sup>***</sup></b>  | <b>20,85<sup>**</sup></b> | <b>0,19<sup>***</sup></b> | <b>0,88<sup>*</sup></b>   | <b>1,11<sup>***</sup></b> | <b>36,97<sup>**</sup></b>   | <b>44,55<sup>**</sup></b>   | <b>0,08<sup>**</sup></b>  | <b>15,14<sup>**</sup></b> | <b>8,88<sup>***</sup></b> | <b>5545,82<sup>***</sup></b> | <b>1,1E-02<sup>***</sup></b> | <b>1498,50<sup>***</sup></b> |
| Rep(Amb) | 4  | 0,27 <sup>ns</sup>        | 5  | 0,69 <sup>ns</sup>          | 0,08 <sup>ns</sup>        | 0,04 <sup>ns</sup>        | 0,07 <sup>ns</sup>        | <b>0,11<sup>*</sup></b>   | 10,50 <sup>ns</sup>         | 9,41 <sup>ns</sup>          | <b>0,09<sup>**</sup></b>  | 1,70 <sup>ns</sup>        | <b>1,85<sup>***</sup></b> | <b>643,41<sup>***</sup></b>  | 5,7E-04 <sup>ns</sup>        | <b>194,45<sup>**</sup></b>   |
| Gen.     | 14 | <b>6,95<sup>***</sup></b> | 14 | <b>78,24<sup>***</sup></b>  | <b>22,22<sup>**</sup></b> | <b>3,35<sup>***</sup></b> | <b>10,12<sup>**</sup></b> | <b>0,97<sup>***</sup></b> | <b>190,10<sup>***</sup></b> | <b>272,38<sup>***</sup></b> | <b>0,39<sup>***</sup></b> | <b>12,96<sup>**</sup></b> | <b>10,22<sup>**</sup></b> | <b>1324,15<sup>***</sup></b> | <b>5,3E-03<sup>***</sup></b> | <b>1746,55<sup>***</sup></b> |
| ACG      | 4  | <b>22,31<sup>**</sup></b> | 4  | <b>183,35<sup>***</sup></b> | <b>35,77<sup>**</sup></b> | <b>6,75<sup>***</sup></b> | <b>33,57<sup>**</sup></b> | <b>3,20<sup>***</sup></b> | <b>652,79<sup>***</sup></b> | <b>939,02<sup>***</sup></b> | <b>1,30<sup>***</sup></b> | <b>33,63<sup>**</sup></b> | <b>26,75<sup>**</sup></b> | <b>3628,50<sup>***</sup></b> | <b>1,2E-02<sup>***</sup></b> | <b>3657,43<sup>***</sup></b> |
| ACE      | 10 | 0,80 <sup>ns</sup>        | 10 | <b>36,19<sup>***</sup></b>  | <b>16,80<sup>**</sup></b> | <b>2,00<sup>***</sup></b> | <b>0,74<sup>**</sup></b>  | 0,07 <sup>ns</sup>        | 5,02 <sup>ns</sup>          | 5,72 <sup>ns</sup>          | 0,02 <sup>ns</sup>        | <b>4,69<sup>***</sup></b> | <b>3,61<sup>***</sup></b> | <b>402,41<sup>***</sup></b>  | <b>2,8E-03<sup>*</sup></b>   | <b>982,19<sup>***</sup></b>  |
| Gen*Amb  | 42 | 1,12 <sup>ns</sup>        | 56 | 1,69 <sup>ns</sup>          | <b>0,51<sup>**</sup></b>  | <b>0,04<sup>**</sup></b>  | 0,32 <sup>ns</sup>        | <b>0,07<sup>*</sup></b>   | 10,06 <sup>ns</sup>         | 11,16 <sup>ns</sup>         | 0,02 <sup>ns</sup>        | <b>1,67<sup>*</sup></b>   | <b>0,64<sup>**</sup></b>  | <b>213,32<sup>**</sup></b>   | 1,0E-03 <sup>ns</sup>        | 75,44 <sup>ns</sup>          |
| ACG*Amb  | 12 | 1,74 <sup>**</sup>        | 16 | 2,48 <sup>ns</sup>          | 0,32 <sup>ns</sup>        | 0,04 <sup>ns</sup>        | 0,28 <sup>ns</sup>        | <b>0,12<sup>***</sup></b> | 18,73 <sup>*</sup>          | 23,30 <sup>**</sup>         | 0,03 <sup>ns</sup>        | <b>1,82<sup>*</sup></b>   | 0,52 <sup>ns</sup>        | 150,42 <sup>ns</sup>         | 1,4E-03 <sup>ns</sup>        | 134,90 <sup>**</sup>         |
| ACE*Amb  | 30 | 0,87 <sup>ns</sup>        | 40 | 1,37 <sup>ns</sup>          | <b>0,59<sup>**</sup></b>  | <b>0,04<sup>**</sup></b>  | 0,34 <sup>ns</sup>        | 0,04 <sup>ns</sup>        | 6,59 <sup>ns</sup>          | 6,30 <sup>ns</sup>          | 0,02 <sup>ns</sup>        | <b>1,61<sup>*</sup></b>   | <b>0,68<sup>**</sup></b>  | <b>238,48<sup>**</sup></b>   | 8,8E-04 <sup>ns</sup>        | 51,66 <sup>ns</sup>          |
| Error    | 56 | 0,71                      | 70 | 1,51                        | 0,26                      | 0,02                      | 0,28                      | 0,04                      | 9,73                        | 9,95                        | 0,02                      | 1,02                      | 0,36                      | 119,46                       | 1,2E-03                      | 58,14                        |
| Ā        | —  | 23,34                     | —  | 68,28                       | 10,45                     | 4,82                      | 10,66                     | 2,15                      | 30,00                       | 56,15                       | 1,05                      | 76,27                     | 4,19                      | 63,52                        | 1,20                         | 463,54                       |
| DE       |    | 1,26                      |    | 3,07                        | 1,72                      | 0,59                      | 1,11                      | 0,41                      | 5,25                        | 6,00                        | 0,24                      | 1,67                      | 1,29                      | 20,77                        | 4,0E-02                      | 16,33                        |
| IB       |    | 0,98                      |    | 0,91                        | 0,81                      | 0,67                      | 0,99                      | 0,86                      | 1                           | 1                           | 0,99                      | 0,69                      | 0,94                      | 0,95                         | 0,90                         | 0,88                         |

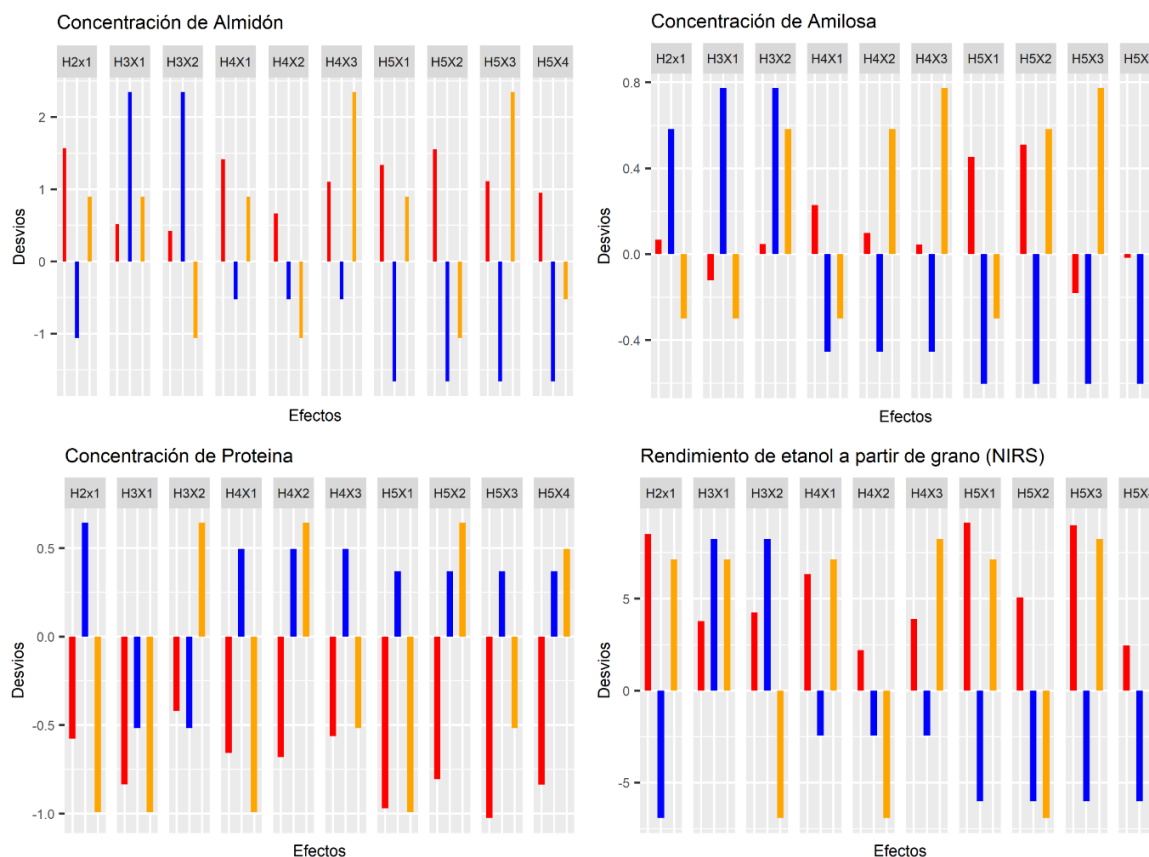
FV: Fuente de variación; Amb: Ambiente; Rep(Amb): Repetición anidada dentro de los ambientes; Gen: Genotipo; ACG: Aptitud combinatoria general; ACE: Aptitud combinatoria específica; Gen\*Amb: Interacción del genotipo con el ambiente; ACG\*Amb: interacción de la ACG con el ambiente; ACE\*Amb: interacción de la ACE con el ambiente; Ā: media general; DE: desvío estándar; IB: índice de Baker; <sup>ns</sup> No significativa; <sup>\*</sup> Significancia a un nivel de probabilidad de 0,05; <sup>\*\*</sup> Significancia a un nivel de probabilidad de 0,01; <sup>\*\*\*</sup> Significancia a un nivel de probabilidad de 0,001. Se resaltan en negrita todos los cuadrados medios estadísticamente significativo ( $p - valor < 0,05$ )

**Tabla 3.6** Efectos de ACG (aptitud combinatoria general) y ACE (Aptitud combinatoria específica) de líneas e híbridos obtenidos mediante un diseño genético dialélico de Griffing (1956), método II de efectos fijos para los caracteres concentración de amilosa (CAM), almidón (CAL), proteína (PRT) y aceite (CA), ácidos palmítico (AP), esteárico (AE), oleico (AO), linoleico (ALI) y linolénico, peso hectolítrico (PH), relación de molienda (RM), índice de flotación (IF), densidad de grano (DG) y rendimiento de etanol a partir de grano (REGN).

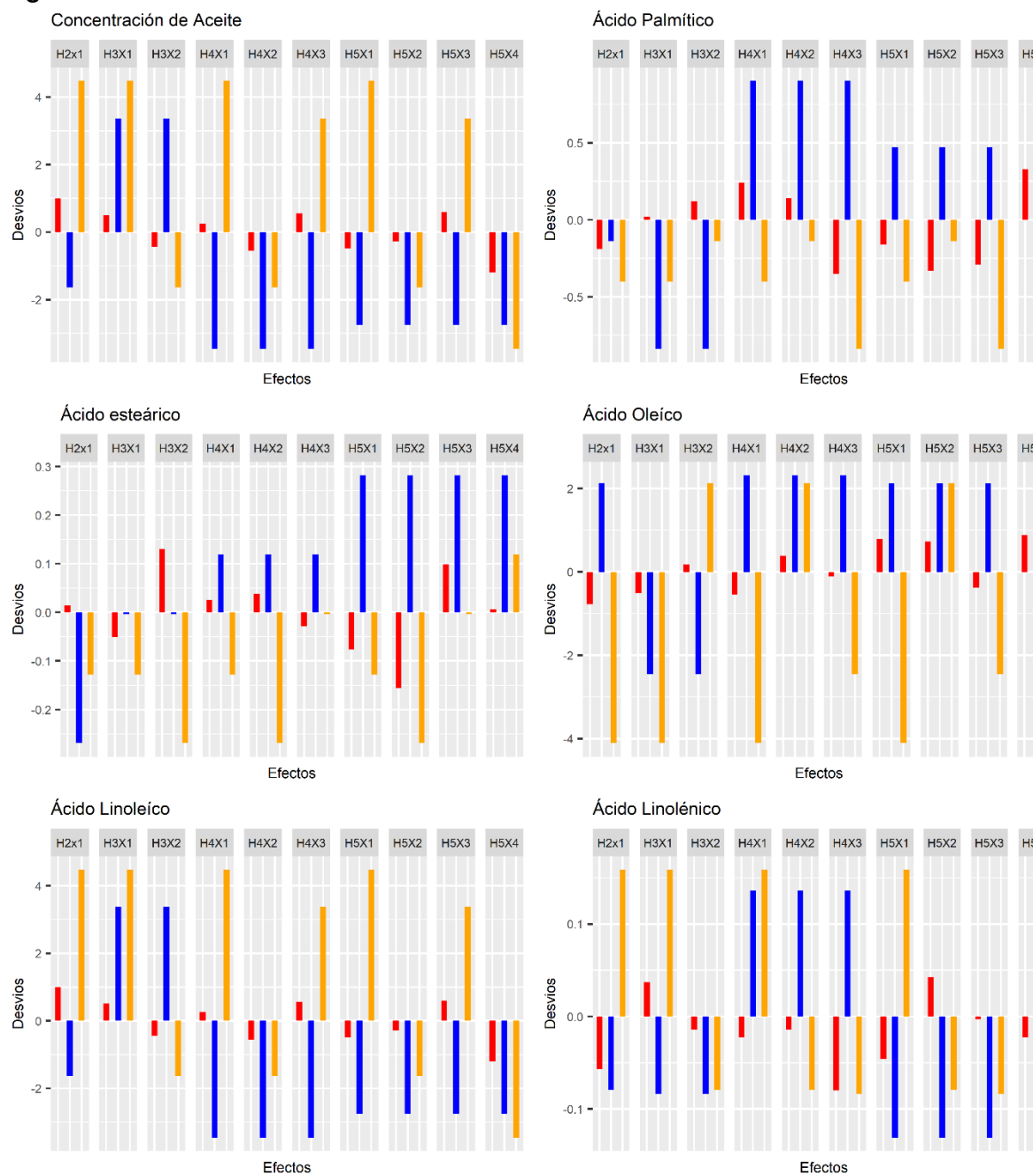
| <u>ACG</u> |                |                |                |                |                |       | <u>ACE</u>       |                  |                  |                  |                  |                  |                  |                  |                  |                  |       |  |
|------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|-------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|-------|--|
| Gen        | LP2542         | LP661          | LP29           | LP923          | LP214          |       | 1                | 2                | 3                | 4                | 5                | 6                | 7                | 8                | 9                | 10               |       |  |
| Var        | L <sub>1</sub> | L <sub>2</sub> | L <sub>3</sub> | L <sub>4</sub> | L <sub>5</sub> | EE    | H <sub>3x2</sub> | H <sub>3x1</sub> | H <sub>4x3</sub> | H <sub>5x3</sub> | H <sub>5x2</sub> | H <sub>5x1</sub> | H <sub>5x4</sub> | H <sub>4x2</sub> | H <sub>4x1</sub> | H <sub>2x1</sub> | EE    |  |
| CAM        | -0,30          | 0,58           | 0,77           | -0,45          | -0,60          | 0,071 | —                | —                | —                | —                | 0,51             | 0,45             | —                | —                | —                | —                | 0,260 |  |
| CAL        | 0,90           | -1,06          | 2,35           | -0,52          | -1,66          | 0,093 | 0,60             | 0,11             | 0,19             | 0,22             | 0,28             | 0,35             | 0,26             | 0,20             | 0,24             | -0,08            | 0,043 |  |
| PRT        | -0,99          | 0,64           | -0,52          | 0,49           | 0,37           | 0,038 | -0,42            | -0,84            | -0,56            | -1,03            | -0,81            | -0,97            | -0,84            | -0,68            | -0,66            | -0,58            | 0,140 |  |
| CA         | -0,41          | 0,06           | -0,10          | —              | 0,45           | 0,012 | 0,60             | 0,11             | 0,19             | 0,22             | 0,28             | 0,35             | 0,26             | 0,20             | 0,24             | -0,08            | 0,043 |  |
| AP         | -0,40          | -0,14          | -0,84          | 0,90           | 0,47           | 0,040 | —                | —                | -0,35            | -0,29            | -0,33            | —                | 0,33             | —                | —                | —                | 0,147 |  |
| AE         | -0,13          | -0,27          | —              | 0,12           | 0,28           | 0,015 | 0,13             | —                | —                | 0,10             | -0,16            | —                | —                | —                | —                | —                | 0,055 |  |
| AO         | -4,11          | 2,13           | -2,45          | 2,32           | 2,12           | 0,236 | —                | —                | —                | —                | —                | —                | —                | —                | —                | —                | 0,861 |  |
| ALI        | 4,48           | -1,64          | 3,37           | -3,46          | -2,75          | 0,238 | —                | —                | —                | —                | —                | —                | —                | —                | —                | —                | 0,871 |  |
| ALN        | 0,16           | -0,08          | -0,08          | 0,14           | -0,13          | 0,011 | —                | —                | -0,08            | —                | —                | —                | —                | —                | —                | —                | 0,040 |  |
| REGN       | 7,13           | -6,93          | 8,25           | -2,44          | -6,01          | 0,576 | 4,26             | 3,77             | 3,89             | 8,99             | 5,07             | 9,13             | —                | —                | 6,34             | 8,51             | 2,105 |  |
| PH         | -1,18          | 0,35           | 0,28           | —              | —              | 0,076 | —                | -0,92            | —                | -0,96            | —                | 0,49             | —                | —                | 0,90             | -0,54            | 0,279 |  |
| RM         | -0,80          | 0,69           | -0,45          | 0,44           | 0,12           | 0,046 | -0,31            | -0,51            | -0,42            | -0,29            | -0,54            | —                | —                | —                | —                | -0,44            | 0,166 |  |
| IF         | 11,42          | -7,70          | —              | —              | -4,02          | 0,826 | —                | 6,04             | —                | —                | —                | —                | —                | 7,03             | -11,28           | —                | 3,017 |  |
| DG         | -0,02          | 0,01           | -0,01          | —              | 0,01           | 0,003 | —                | -0,02            | —                | -0,02            | —                | —                | —                | -0,02            | 0,01             | 0,00             | 0,010 |  |

Var: Variables; Gen: Genotipos; EE: Error estándar. Se omiten los efectos con un valor de probabilidad asociado menor a un  $\alpha$ : 0,1

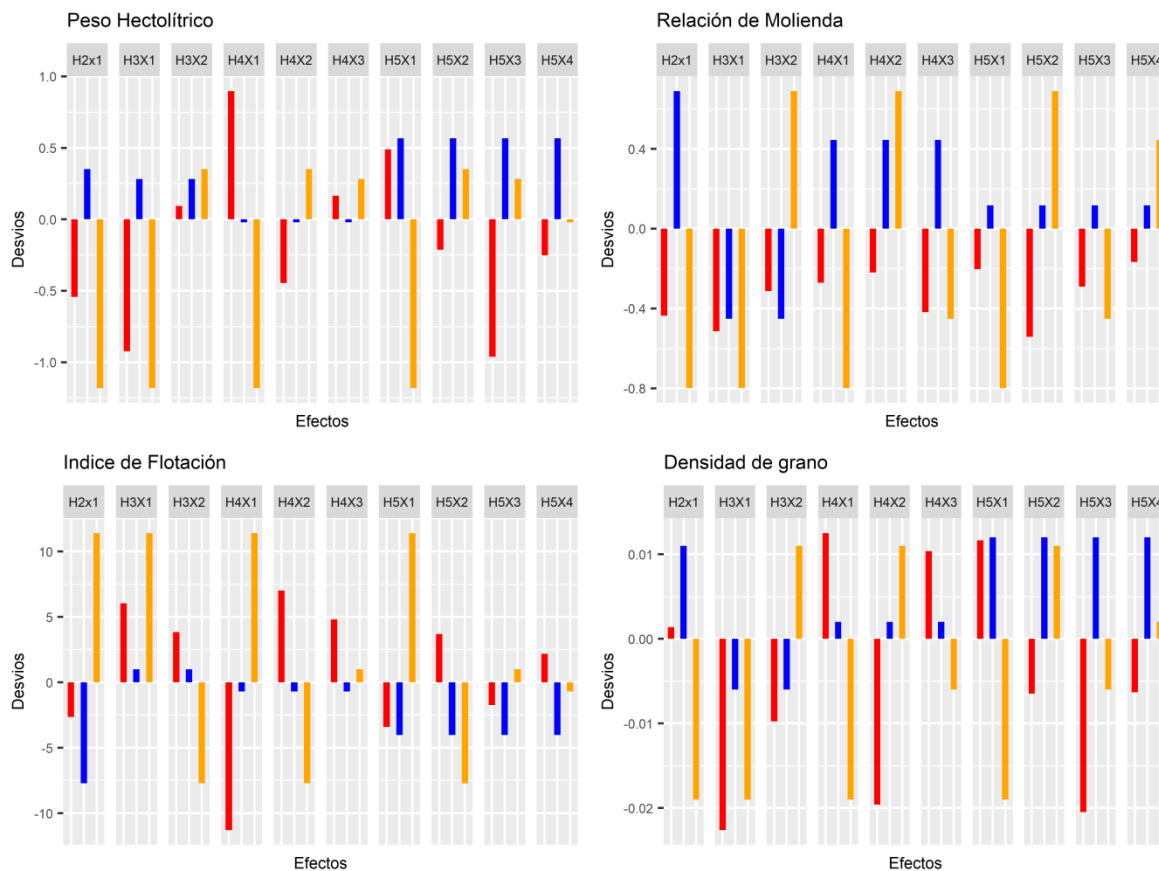
**Figura 3.6.** Diagrama de la contribución de los efectos genéticos de aptitud combinatoria general de los parentales hembra (en azul) y macho (en anaranjado) y específica del cruzamiento (rojo) en cada híbrido mediante un diseño genético de Griffing tipo II de efectos fijos a través de ambientes, para características químicas de endospermo y rendimiento de etanol a partir de grano. Las medias generales de cada variable se pueden consultar en la Tabla 3.5



**Figura 3.6** Continuación.



**Figura 3.7.** Diagrama de la contribución de los efectos genéticos de aptitud combinatoria general de los parentales hembra (en azul) y macho (en anaranjado) y específica del cruzamiento (en rojo) en cada híbrido mediante un diseño genético de Griffing tipo II de efectos fijos a través de ambientes, para propiedades físicas. Las medias generales de cada variable se pueden consultar en la Tabla 3.5



El ACP de los efectos de *ACG* y *ACE* correspondientes al análisis individual para los caracteres asociados a características de grano explicó el 59,7 % de la variabilidad y representó un contraste entre los efectos de los caracteres de calidad más relacionados con el endospermo con los relacionados al germen (Figura 3.8.a).

El primer componente (CP 1) estuvo asociado a los caracteres relacionados a la dureza y calidad del endospermo explicando el 39,9 % de la varianza total. Este componente discriminó entre la contribución de efectos de *ACG* y *ACE* positivos (derecha de CP 1) y negativos (izquierda de CP 1) para el rendimiento de etanol a partir de grano. La aptitud combinatoria para el rendimiento de etanol se correlacionó positivamente con las aptitudes combinatorias de concentración de almidón e índice de flotación; a su vez presentó correlación negativa con las aptitudes combinatorias de concentración de proteína, la

relación de molienda, el peso hectolítrico y la densidad de grano. Consecuentemente, los efectos de aptitud combinatoria de los genotipos que contribuyen a un endospermo más harinoso o suave presentan cargas positivas sobre el componente uno (CP 1) y contrariamente los efectos de aptitudes combinatorias de los genotipos que contribuyen a un endospermo más duro presentaron pesos negativos sobre esta componente.

El segundo componente principal (CP 2) explicó el 19,8 % de la variabilidad total. Este eje permitió discriminar las contribuciones de los efectos de las aptitudes combinatorias de los caracteres asociados a la calidad del germen del grano. Los efectos que contribuyen a aumentar la media de la concentración de aceite, ácidos esteárico y oleico, se encuentran asociados al eje positivo del componente y estos están correlacionados positivamente entre sí. A diferencia de los efectos de aptitud combinatoria para los ácidos linoleico y linolénico que se encuentran asociados al eje negativo de este componente. El eje negativo está asociado a los ácidos grasos poliinsaturados, a diferencia del positivo que reúne a los ácidos saturados y monoinsaturados. Se observó que sólo los efectos de aptitud combinatoria de la concentración de aceite y ácido linoleico correlacionaron positivamente con el rendimiento de etanol a partir de grano.

El ACP de la primera coordenada dividida en los ambientes estudiados (Figura 3.8.b), permitió discriminar los efectos de aptitud combinatoria relacionados a la dureza y calidad del endospermo e identificar el comportamiento diferencial de cada genotipo en cada ambiente. El primer componente principal de este segundo análisis, explicó el 88,1 % de la varianza total y discriminó los efectos de aptitud combinatoria positivos y negativos en relación al rendimiento de etanol a partir de grano. Se observó una fuerte correlación entre los ambientes de los experimentos realizados en la campaña 2015-16 y entre los realizados en la campaña 2016-17.

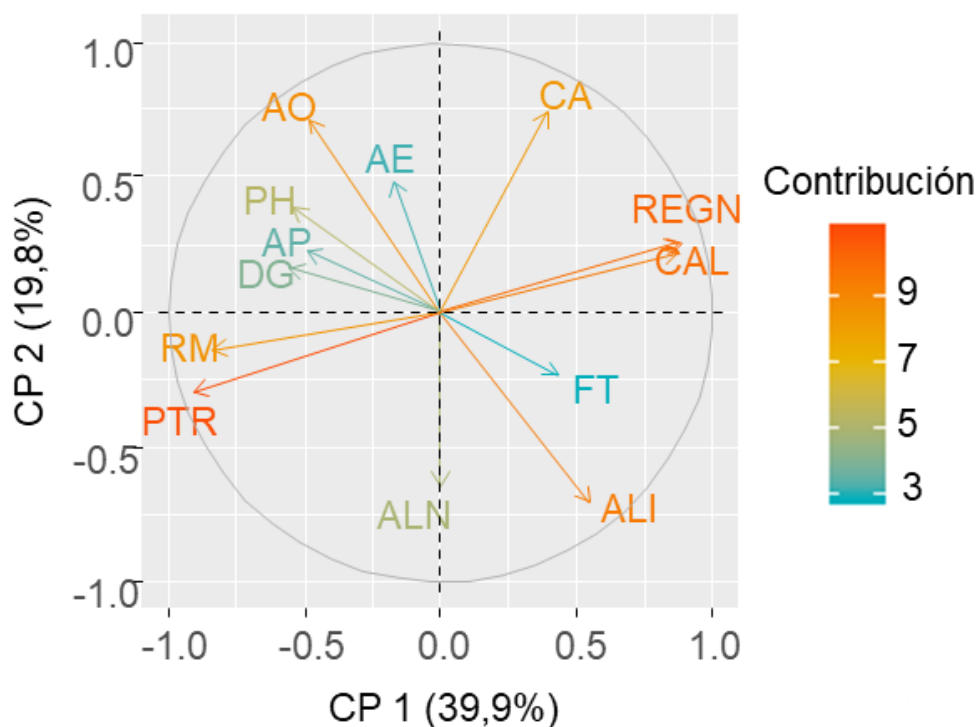
Para los caracteres de calidad de grano que evidenciaron correlación positiva con el rendimiento de etanol a partir de grano, los mayores efectos estuvieron dados por la *ACG* de las líneas  $L_1$  (LP2542) y  $L_3$  (LP29) y las *ACE* (de mayor a menor) por  $H_{5 \times 3}$  (Junín 2016-17);  $H_{5 \times 2}$  (Pergamino 2015-16);  $H_{3 \times 1}$  (Pergamino 2016-17) y  $H_{2 \times 1}$  (Junín 2015-16 y Pergamino 2015-16).

En el ACP realizado a partir de la segunda coordenada (Figura 3.8.c), se encontró que la mayor contribución de efectos para la concentración de aceite, y de ácidos esteárico, oleico y palmítico estuvieron dados por la *ACG* de la línea  $L_5$  (LP214) en Junín 2015-16.

Contrariamente,  $L_1$  (LP2542) y  $L_3$  (LP29) aportaron efectos negativos para estos caracteres y positivos para los ácidos linoleico y linolénico. Los cruzamientos que presentaron mayores contribuciones para la concentración de aceite y ácidos grasos saturados en Junín fueron  $H_{3 \times 2}$  (LP29 x LP661),  $H_{4 \times 1}$  (LP923 x LP2542),  $H_{5 \times 4}$  (LP214 x LP923),  $H_{4 \times 3}$  (LP923 x LP29),  $H_{5 \times 2}$  (LP214 x LP661) y en Pergamino fueron  $H_{5 \times 1}$  (LP214 x LP2542),  $H_{4 \times 2}$  (LP923 x LP661) y  $H_{5 \times 3}$  (LP214 x LP29).

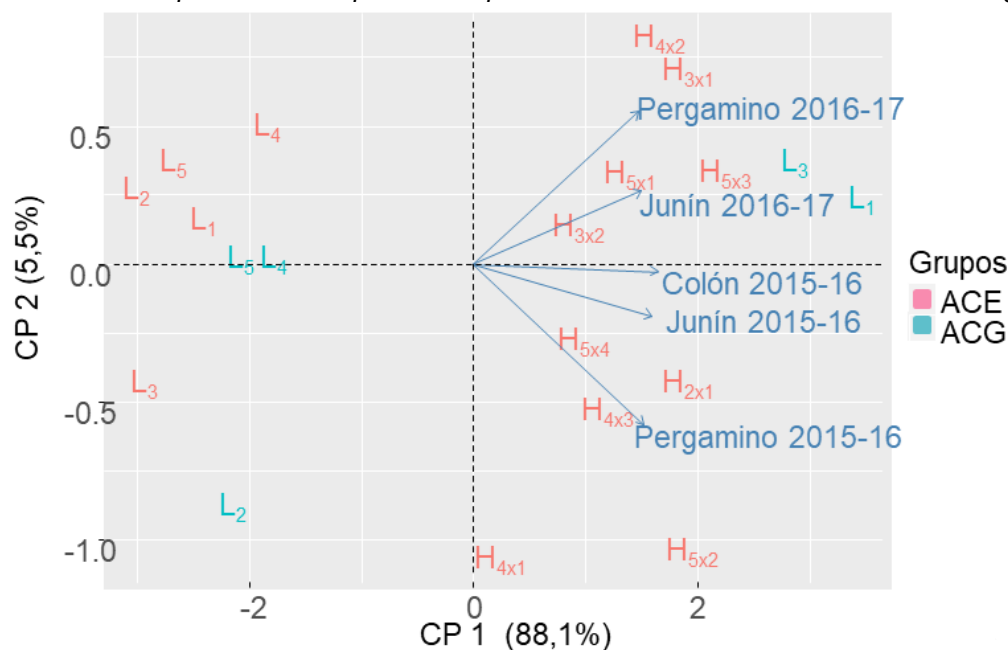
**Figura 3.8** Análisis de componentes principales (ACP) de las variables asociadas a calidad de grano para los efectos de aptitud combinatoria general (ACG) y específica (ACE)

a) Calidad de grano: ACP a partir de los efectos de ACG y ACE obtenidos en el análisis dialélico de Griffing método II por ambiente individual de efectos fijos.

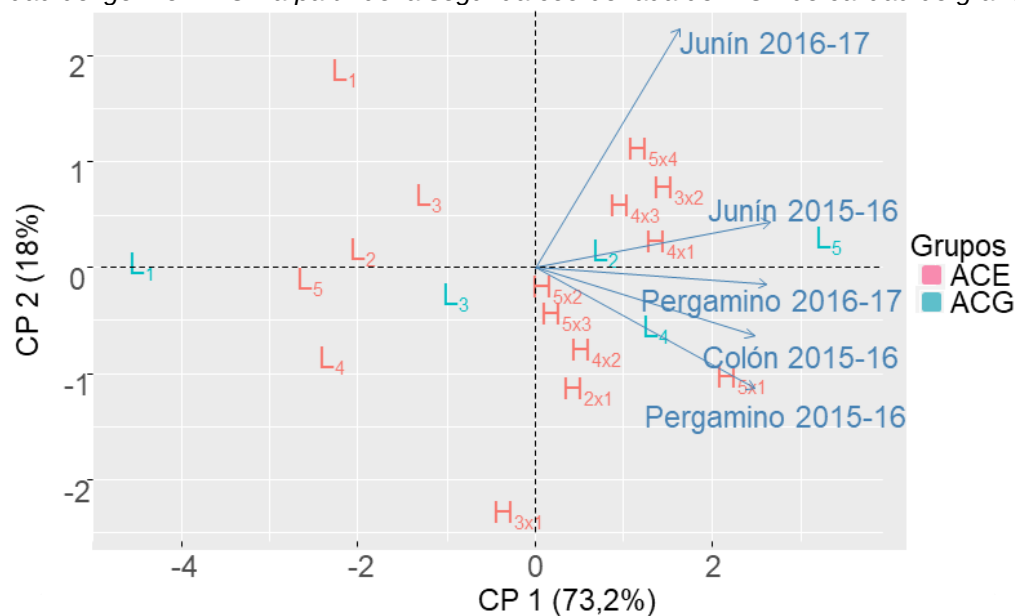


**Figura 3.8** Continuación

*b) Calidad del endosperma: ACP a partir de la primera coordenada del ACP de calidad de grano*



*c) Calidad del germen: ACP a partir de la segunda coordenada del ACP de calidad de grano*



**a)** La escala muestra la contribución de las variables a las componentes. Los vectores denotan los siguientes caracteres CAL: Concentración de almidón; PRT: Concentración de proteína; CA: Concentración de aceite; AP: Ácido palmítico; AE: Ácido esteárico; AO: Ácido oleico; ALI: Ácido linolénico; ALN: Ácido linolénico; REGN: Rendimiento de etanol a partir de grano; PH: Peso hectolítrico; RM: Relación de molienda; **b)** y **c)** ACP con la primera y segunda coordenada obtenida en el primer ACP. Los vectores representan a los ambientes. Las observaciones representan a los efectos de aptitud combinatoria de cada genotipo. El celeste hace referencia a ACE y el rosa a ACG. La "x" denota la cruz entre las líneas siendo L<sub>1</sub>: LP2542; L<sub>2</sub>: LP29; L<sub>3</sub>: LP214; L<sub>4</sub>: LP661; L<sub>5</sub>: LP923



## 4.2. Caracteres asociados a las determinaciones químicas de calidad de biomasa

Los análisis de varianza correspondientes al diseño dialélico se muestran en la Tabla 3.7. Los efectos de las interacciones cruzamientos por ambiente resultaron estadísticamente significativos ( $p - valor < 0,05$ ) para todos los caracteres asociados a DQCB. En todos los casos estos efectos se debieron a efectos *ACG* y *ACE* excepto digestibilidad de FDN que la interacción genotipo por ambiente se debió en mayor medida sólo por los efectos de *ACG*. Los índices de Baker resaltaron la importancia de los efectos de *ACE x ambiente* siendo menores a 1 para todos los atributos mencionados.

**Tabla 3.7.** Cuadrados medios del análisis de varianza a través de ambientes para determinaciones químicas de calidad de biomasa según el diseño dialélico de Griffing (1956), método II de efectos fijos para fibra de detergente neutro (FDN), fibra de detergente ácido (FDA), lignina de detergente ácido (LDA), celulosa (CE), hemicelulosa (HE), digestibilidad in vitro de la fibra (DIVF), digestibilidad de FDN (DFDN), rendimiento de etanol a partir de biomasa (REB).

| FV       | GL | FDN                              | FDA                | LDA                 | CE                  | HE                  | DIVF        | DFDN                | REB                   |
|----------|----|----------------------------------|--------------------|---------------------|---------------------|---------------------|-------------|---------------------|-----------------------|
| Unidad   | -  | -----g,100,g <sup>-1</sup> ----- |                    |                     |                     |                     | -----%----- |                     | Mg,L <sup>-1</sup>    |
| Amb      | 4  | 329,209***                       | 85,596***          | 4,298***            | 106,505***          | 129,762***          | 86,003***   | 75,358***           | 20341,512***          |
| Rep(Amb) | 5  | 5,190 <sup>ns</sup>              | 1,81 <sup>ns</sup> | 0,548**             | 1,309 <sup>ns</sup> | 1,984 <sup>ns</sup> | 12,369**    | 49,175***           | 257,888 <sup>ns</sup> |
| Gen.     | 14 | 37,662***                        | 33,885***          | 0,508 <sup>ns</sup> | 33,242***           | 4,488*              | 15,004**    | 29,783***           | 1878,975***           |
| ACG      | 4  | 83,188***                        | 56,200***          | 0,806***            | 55,079***           | 4,100**             | 30,902***   | 31,514***           | 4179,560***           |
| ACE      | 10 | 19,452***                        | 24,959***          | 0,389**             | 24,506***           | 4,643***            | 8,645**     | 29,091***           | 958,741***            |
| Gen*Amb  | 56 | 11,492***                        | 5,117***           | 0,282***            | 4,654***            | 2,231**             | 5,864**     | 7,420*              | 588,503***            |
| ACG*Amb  | 16 | 10,891**                         | 4,687**            | 0,357**             | 4,966**             | 2,959**             | 5,248*      | 8,325*              | 627,709**             |
| ACE*Amb  | 40 | 11,733***                        | 5,288***           | 0,253**             | 4,530***            | 1,941*              | 6,111***    | 7,059 <sup>ns</sup> | 572,822***            |
| Error    | 70 | 4,452                            | 2,022              | 0,123               | 1,797               | 1,138               | 2,858       | 4,763               | 224,708               |
| Ā        | -  | 78,65                            | 40,87              | 6,90                | 33,97               | 37,78               | 43,64       | 32,14               | 515,82                |
| DE       | -  | 4,35                             | 2,9                | 0,59                | 2,94                | 2,31                | 2,77        | 3,39                | 32,53                 |
| IB       | -  | 0,65                             | 0,64               | 0,74                | 0,69                | 0,75                | 0,63        | 0,70                | 0,69                  |

FV: Fuente de variación; Amb: Ambiente; Rep(Amb): Repetición anidada dentro de los ambientes; Gen: Genotipo; ACG: Aptitud combinatoria general; ACE: Aptitud combinatoria específica; Gen\*Amb: Interacción del genotipo con el ambiente; ACG\*Amb: interacción de la ACG con el ambiente ACE\*Amb: interacción de la ACE con el ambiente; Ā: media general; DE: desvío estándar, GL: Grados de libertad; IB: índice de Baker; <sup>ns</sup> No significativa; \* Significancia a un nivel de probabilidad de 0,05; \*\* Significancia a un nivel de probabilidad de 0,01; \*\*\* Significancia a un nivel de probabilidad de 0,001.

Las líneas L<sub>1</sub> (LP2542) y L<sub>5</sub> (LP214) presentaron efectos de *ACG* altos y positivos para FDN, FDA, celulosa y rendimiento de etanol a partir de biomasa, sobresaliendo los efectos altos

y positivos de la línea  $L_5$  (LP214). Sólo  $L_1$  (LP2542) presentó efectos de *ACG* positivos para hemicelulosa y digestibilidad de FDN y efectos de *ACG* negativos para LDA.

Contrariamente  $L_2$  (LP661) y  $L_3$  (LP29) presentaron una *ACG* negativa para rendimiento de etanol a partir de biomasa y efectos de *ACG* positivos para LDA. Estas líneas también presentaron efectos de *ACG* negativos para FDN y celulosa, y efectos positivos para digestibilidad de FDN. La línea  $L_4$  (LP923) al igual que las líneas  $L_2$  (LP661) y  $L_3$  (LP29), no mostraron efectos de *ACG* deseables para el rendimiento de etanol a partir de biomasa, ya que presentaron efectos negativos para FDN, LDA, hemicelulosa y rendimiento de bioetanol a partir de biomasa.

Los cruzamientos  $H_{4 \times 3}$  (LP923 x LP29),  $H_{5 \times 3}$  (LP214 x LP923),  $H_{5 \times 4}$  (LP214 x LP923),  $H_{4 \times 2}$  (LP923 x LP661) mostraron efectos de *ACE* altos positivos para rendimiento de etanol a partir de biomasa, FDN, FDA y celulosa. Los mayores rendimientos medios de etanol a partir de biomasa a través de ambientes los presentaron,  $H_{5 \times 2}$  (LP214 x LP661),  $H_{5 \times 1}$  (LP214 x LP2542),  $H_{5 \times 4}$  (LP2542 x LP923) y  $H_{4 \times 1}$  (LP923 x LP2542). Estos genotipos tienen como uno de los parentales a las líneas  $L_5$  (LP214) ó  $L_1$  (LP2542) que aportaron positivamente a la media del carácter con su *ACG* alta positiva. En el caso de  $H_{5 \times 4}$  (LP214 x LP923) el mayor aporte fue dado por la *ACE* ya que las *ACG* de los parentales fueron similares y de signo opuesto.

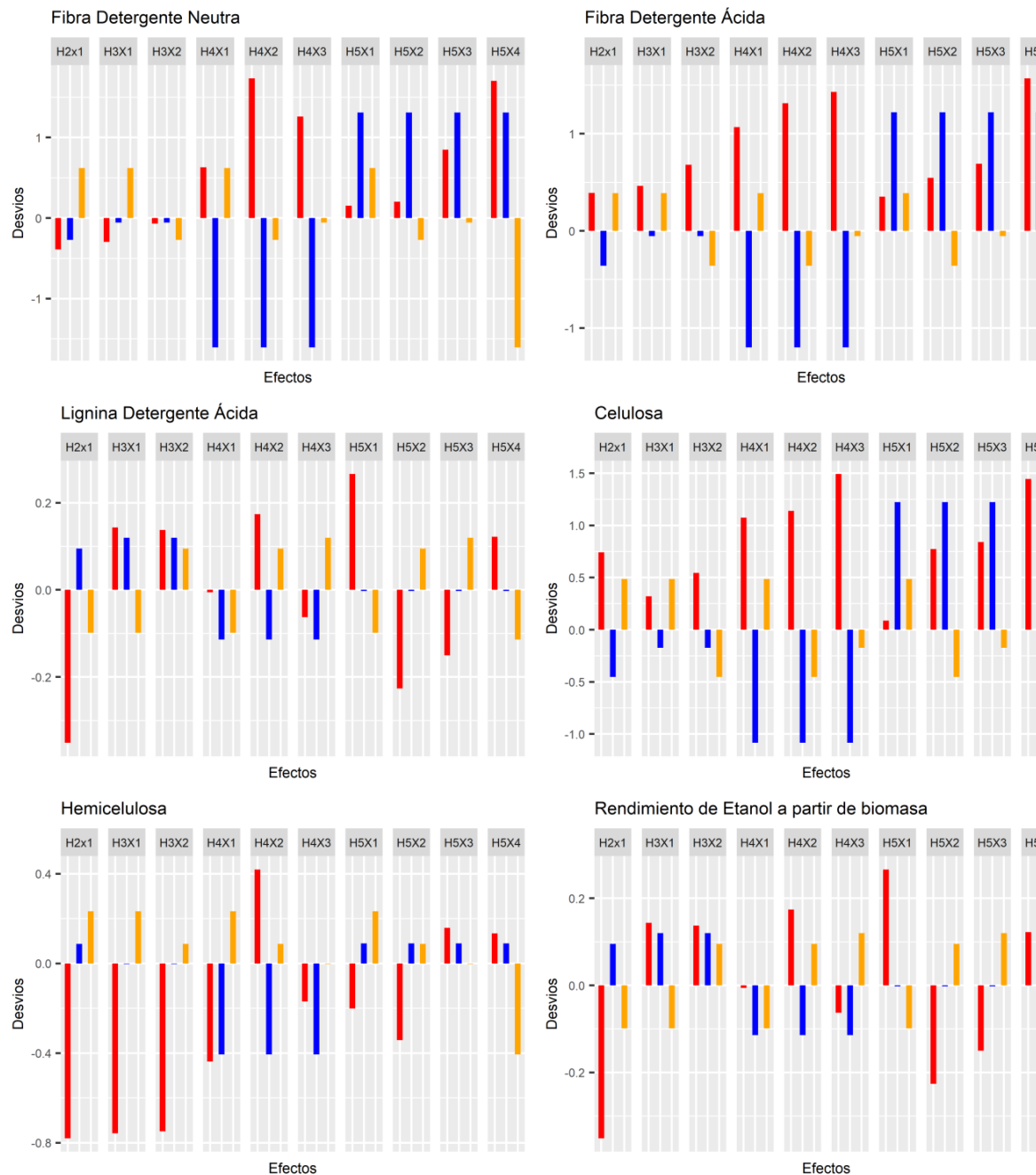
Las contribuciones de la *ACG* de cada parental y de la *ACE* de cada híbrido para celulosa, hemicelulosa y rendimiento de etanol a partir de biomasa se pueden observar de forma gráfica en la Figura 3.9. Las barras representan los efectos de *ACG* de cada parental y *ACE* del cruzamiento en función a la totalidad de los desvíos que conforman junto con la media el valor fenotípico de cada híbrido.

**Tabla 3.8.** Efectos de ACG (aptitud combinatoria general) y ACE (Aptitud combinatoria específica) de líneas e híbridos para características de calidad de biomasa obtenidos mediante un diseño genético dialélico de Griffing (1956), método II de efectos fijos para fibra de detergente neutro (FDN), fibra de detergente ácido (FDA), lignina de detergente ácido (LDA), celulosa (CE), hemicelulosa (HE), digestibilidad in vitro de la fibra (DIVF), digestibilidad de FDN (DFDN), rendimiento de etanol a partir de biomasa (REB).

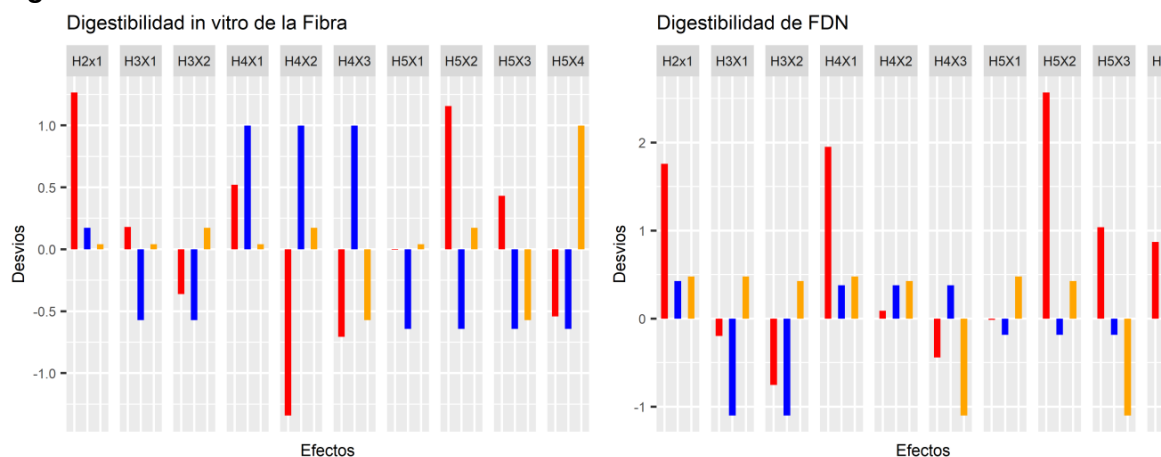
| Gen  | <u>ACG</u> |        |        |         |        |       | <u>ACE</u>       |                  |                  |                  |                  |                  |                  |                  |                  |                  | EE    |
|------|------------|--------|--------|---------|--------|-------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|-------|
|      | L1         | L2     | L3     | L4      | L5     |       | 1                | 2                | 3                | 4                | 5                | 6                | 7                | 8                | 9                | 10               |       |
| Var, | LP2542     | LP661  | LP29   | LP923   | LP214  | EE    | H <sub>3x2</sub> | H <sub>3x1</sub> | H <sub>4x3</sub> | H <sub>5x3</sub> | H <sub>5x2</sub> | H <sub>5x1</sub> | H <sub>5x4</sub> | H <sub>4x2</sub> | H <sub>4x1</sub> | H <sub>2x1</sub> | EE    |
| FDN  | 0,622      | -      | -      | -1,604  | 1,310  | 0,160 | -                | -                | 1,261            | 0,850            | -                | -                | 1,703            | 1,733            | -                | -                | 0,582 |
| FDA  | 0,389      | -0,359 | -      | -1,199  | 1,222  | 0,107 | 0,681            | -                | 1,431            | 0,691            | -                | 0,353            | 1,569            | 1,314            | 1,068            | -                | 0,392 |
| LDA  | -0,098     | 0,095  | 0,120  | -0,114  | -      | 0,027 | -                | -                | -                | -                | -0,226           | 0,266            | -                | 0,174            | -                | -0,351           | 0,097 |
| CE   | 0,487      | -0,454 | -0,173 | -1,085  | 1,224  | 0,101 | -                | -                | 1,493            | 0,841            | 0,773            | -                | 1,446            | 1,140            | 1,074            | 0,742            | 0,370 |
| HE   | 0,233      | -      | -      | -0,406  | -      | 0,081 | -0,748           | -0,758           | -                | -                | -                | -                | -                | -                | -                | -0,780           | 0,294 |
| DIVF | -          | -      | -0,571 | 0,998   | -0,642 | 0,128 | -                | -                | -                | -                | 1,157            | -                | -                | -1,343           | -                | 1,266            | 0,467 |
| DFDN | 0,477      | 0,427  | -1,102 | 0,380   | -      | 0,165 | -                | -                | -                | 1,037            | 2,568            | -                | -                | -                | 1,951            | 1,759            | 0,602 |
| REB  | 5,175      | -2,633 | -      | -10,708 | 9,428  | 1,133 | -                | -                | 9,502            | 7,185            | -                | -                | 11,355           | 11,201           | -                | -                | 4,138 |

Gen: Genotipos; EE: Error estándar. Se omiten los efectos con un valor de probabilidad asociado menor a un  $\alpha$ : 0,1

**Figura 3.9.** Contribución de los efectos genéticos de aptitud combinatoria general de los parentales hembra (ACG\_P1) y macho (ACG\_P2) y específica del cruzamiento (ACE) en cada híbrido obtenidos mediante un diseño genético de Griffing tipo II de efecto fijos a través de ambientes para características de calidad de biomasa. Las medias generales de cada variable se pueden consultar en la Tabla 3.7



**Figura 3.9. Continuación**



El ACP de los efectos de *ACG* y *ACE* obtenidos del dialelo de Griffing de forma individual de los caracteres asociados a la calidad de la biomasa explicó el 83,2 % de la variabilidad total (Figura 3.10.a). La primera componente se relacionó con los carbohidratos fermentables para la obtención de etanol a partir de biomasa y explicó el 55,6 % de la variabilidad total. La segunda componente se asoció a la digestibilidad y la relación de ésta con la concentración de LDA y explicó el 26,7 %.

El ACP a partir del primer componente situando a los ambientes como nuevas variables, permitió identificar los materiales que presentaron mayores efectos de *ACG* y *ACE* en cada ambiente evaluado para FDN, FDA, celulosa, hemicelulosa y rendimiento de etanol a partir de biomasa (Figura 3.10.b).

El primer componente principal explicó el 42,4 % de la variabilidad total. Se observó correlación ambiental entre Junín 2015-16 y Pergamino 2015-16 y a su vez entre Junín 2016-17 y Colón 2015-16, y estos a su vez se asociaron con Pergamino 2016-17.

Para los carbohidratos fermentables,  $L_1$  (LP2542) y  $L_5$  (LP214) presentaron altos efectos de *ACG* y positivos en los ambientes Junín 2016-17 y Colón 2015-16, en cambio  $L_3$  (LP29) presentó efectos de *ACG* similares en todos los ambientes; y  $L_2$  (LP661) y  $L_4$  (LP923) presentaron efectos de *ACG* negativos en todos los ambientes. En relación a los efectos de *ACE* de los híbridos, las mayores contribuciones para estos caracteres estuvieron dados por  $H_{4x2}$  en Junín 2016-17,  $H_{4x3}$  (LP923 x LP29) y  $H_{5x4}$  (LP214 x LP923) en Junín y Colón 2015-16, y  $H_{5x3}$  (LP214 x LP29) en Junín 2016-17, y  $H_{3x2}$  (LP29 x LP661) en Pergamino 2016-17. Ningún cruzamiento sobresalió en el ambiente Pergamino 2016-17.

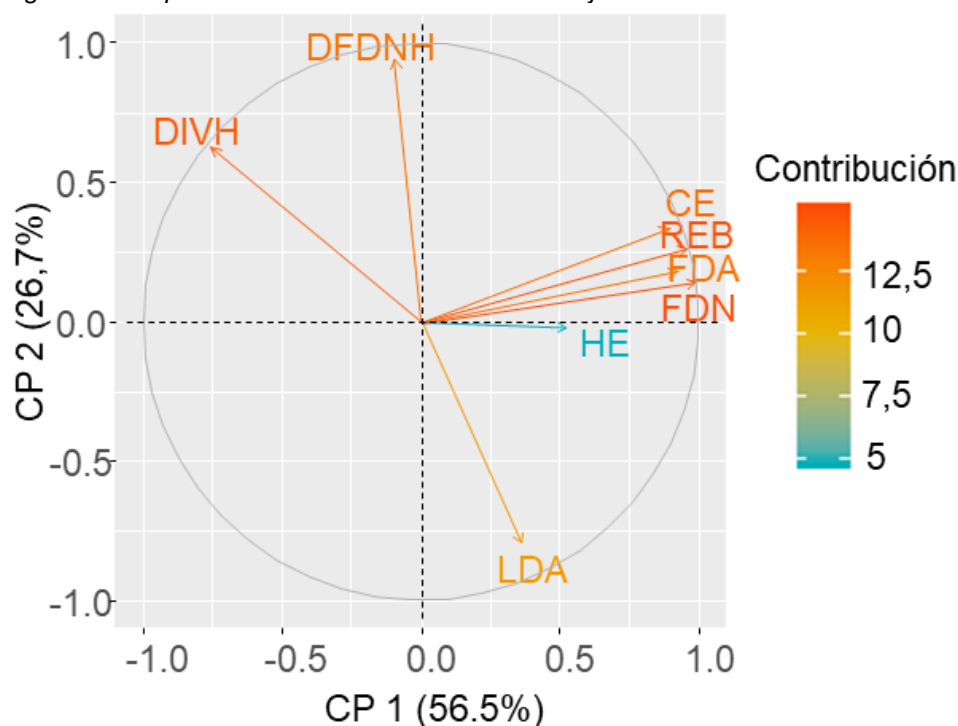
En el análisis de la segunda coordenada obtenida en el primer ACP (Figura 3.10.c), las correlaciones ambientales para los caracteres asociados a digestibilidad resultaron muy diferentes al anterior ACP. En este caso, Colón 2015-16 se diferenció de Junín y Pergamino.

Las líneas L<sub>4</sub> (LP923) y L<sub>5</sub> (LP214) presentaron efectos de *ACG* positivos que contribuyen a la digestibilidad a diferencia de las líneas L<sub>1</sub> (LP2542), L<sub>2</sub> (LP661) y L<sub>3</sub> (LP29) que presentaron efectos de *ACG* que contribuyen a la concentración de LDA.

Los mayores efectos de *ACE* para la digestibilidad lo presentaron los cruzamientos H<sub>2x1</sub> (LP661 x LP2542) en Junín 2016-17, H<sub>5x2</sub> (LP214 x LP661) en Pergamino 2015-16, H<sub>4x1</sub> (LP923 x LP2542) en Pergamino y H<sub>5x3</sub> (LP214 x LP29) en Junín, en ambos casos para los dos años. Sólo el cruzamiento H<sub>5x3</sub> presentó altos efectos de *ACE* para carbohidratos fermentables y digestibilidad pero en distintos ambientes. El resto de los cruzamientos se caracterizaron por presentar efectos que contribuyen a aumentar la concentración de lignina y por consiguiente a una menor digestibilidad.

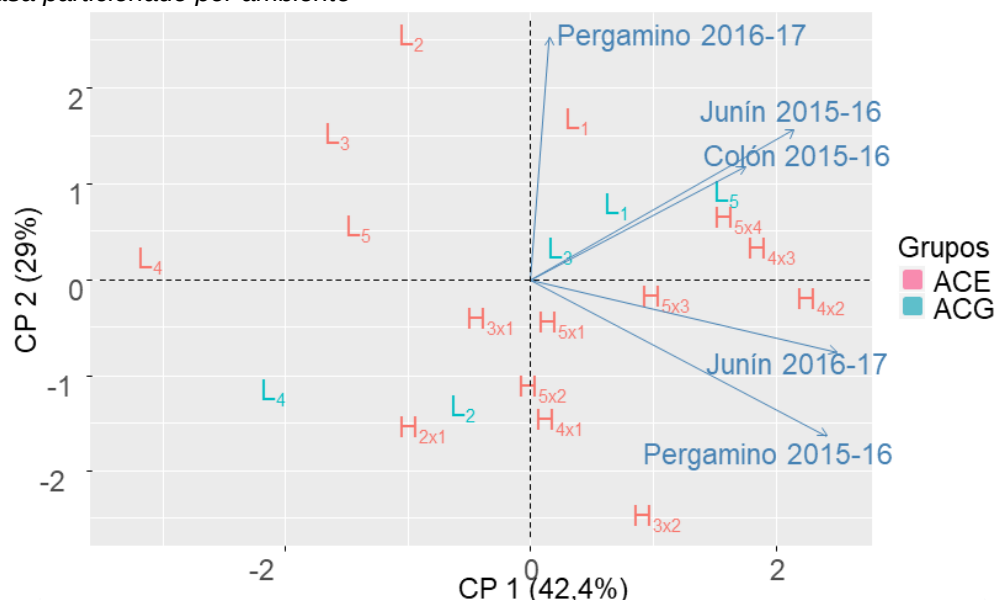
**Figura 3.8** Análisis de componentes principales (ACP) de las variables asociadas a calidad de biomasa para los efectos de aptitud combinatoria general (*ACG*) y específica (*ACE*)

a) Calidad de biomasa: ACP a partir de los efectos de *ACG* y *ACE* obtenidos en el análisis dialélico de Griffing método II por ambiente individual de efectos fijos.

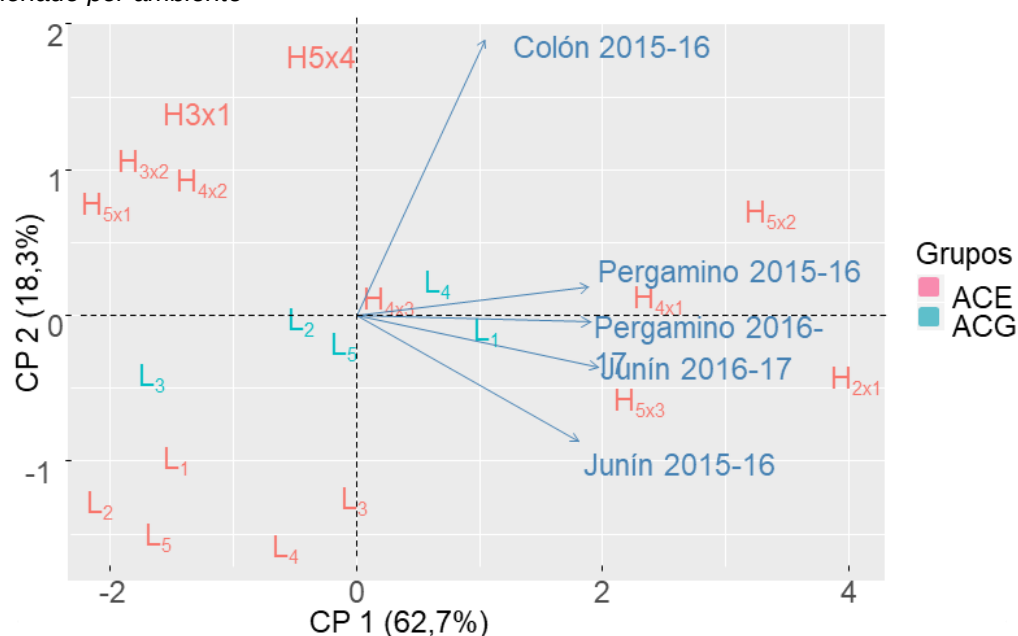


**Figura 3.8** Continuación

b) Carbohidratos fermentables: ACP a partir de la primer coordenada del ACP de calidad de biomasa particionado por ambiente



c) Digestibilidad: ACP a partir de la segunda coordenada del ACP de calidad de biomasa particionado por ambiente



a) La escala muestra la contribución de las variables a las componentes. Los vectores denotan las siguientes variables: FDN: Fibra detergente neutra; FDA: Fibra detergente ácida; LDA: Lignina de detergente ácida; CE: Celulosa; HC: Hemicelulosa; DIVF: digestibilidad *in vitro* de la fibra; DFDN: digestibilidad de FDN; REB: Rendimiento de etanol a partir de biomasa. b) y c) ACP con la primera y segunda coordenada obtenida en el primer ACP. Los vectores representan a los ambientes. Las observaciones representan a los efectos de aptitud combinatoria de cada genotipo. El celeste hace referencia a ACE y el rosa a ACG. La "x" denota la cruce entre las líneas siendo L<sub>1</sub>: LP2542; L<sub>2</sub>: LP29; L<sub>3</sub>: LP214; L<sub>4</sub>: LP661; L<sub>5</sub>: LP923

#### 4.3. Caracteres asociados a características agronómicas y productivas

Los análisis de varianza se muestran en la Tabla 3.9. Se observaron diferencias estadísticamente significativas ( $p - \text{valor} < 0,05$ ) entre los cruzamientos debido a los efectos de *ACG* para rendimiento de biomasa, peso seco de chalas y de marlos; y debida a los efectos de *ACG* y *ACE* para peso de mil granos, longitud de la espiga y número de hileras de grano. Los efectos *ACG x ambiente* presentaron mayor importancia que los efectos de *ACE x ambiente*, debido a que los índices de Baker estuvieron comprendidos entre 0,86 y 0,91.

El resto de las características agronómicas y productivas evaluadas presentaron interacciones genotipo por ambiente estadísticamente significativas ( $p - \text{valor} < 0,05$ ). Para días a floración femenina, altura relativa, diámetro de la espiga, peso seco de tallos y hojas, los efectos involucrados en la interacción fueron mayormente de tipo aditivo (*ACG x Ambiente*), a diferencia de rendimiento de grano que fueron de tipo no aditivo (*ACE x Ambiente*). El índice de cosecha fue el único carácter que los efectos involucrados en la interacción estuvieron dados por efectos de *ACG x Ambiente* y *ACE x Ambiente*, siendo este último de mayor importancia relativa ( $IB = 0,63$ ).

Los efectos de *ACG* y *ACE* de cada genotipo para cada carácter se encuentran en la Tabla 3.10. Anteriormente, se mencionó que la línea  $L_5$  (LP214) aporta efectos positivos y elevados de *ACG* para los caracteres de calidad de biomasa y rendimiento de etanol celulósico. En lo que respecta a las características agronómicas, esta línea presentó efectos de *ACG* negativos para los caracteres asociados con el rendimiento de la biomasa, por lo que estos efectos disminuyen la media de este tipo de caracteres como el peso seco de las distintas fracciones de la planta estudiados. En consecuencia, la línea  $L_5$  (LP214) presenta efectos contrapuestos para la producción de etanol a partir de biomasa, si se busca maximizar el rendimiento de biomasa por hectárea y de rendimiento de etanol por unidad de peso de la misma.

La línea  $L_1$  (LP2542) no presentó efectos de *ACG* estadísticamente significativos ( $p - \text{valor} > 0,1$ ) para rendimiento de biomasa, peso seco de tallos y hojas e índice de cosecha por lo que no presenta buena capacidad para combinarse con otras líneas para estas características. Sin embargo, sí presentó *ACG* positiva para el rendimiento de grano y variables asociadas como peso de mil granos, diámetro y longitud de la espiga y número



de hileras. La línea L<sub>2</sub> (LP661) presentó *ACG* estadísticamente significativa ( $p - valor < 0,1$ ) para todos los caracteres con excepción de días a floración femenina y número de hileras. La *ACG* fue negativa para longitud de la espiga, rendimiento de grano, e índice de cosecha por lo que en combinaciones híbridas tiende a disminuir la media de estos caracteres. La línea L<sub>3</sub> (LP29) no aportó *ACG* positiva para el rendimiento de grano, pero sí para peso de mil granos, longitud de la espiga y número de hileras. La línea L<sub>4</sub> (LP923) mostró los efectos de *ACG* más altos para rendimiento de grano y biomasa. Por último, la línea L<sub>5</sub> (LP214) exhibió *ACG* negativa para todas las variables con excepción del número de hileras que fue positiva.

Con respecto a la *ACE*, los únicos cruzamientos que presentaron efectos positivos y estadísticamente significativos para rendimiento de grano ( $p - valor < 0,1$ ) fueron H<sub>5x2</sub> y H<sub>4x1</sub> (LP923 x LP2542). Estas combinaciones híbridas presentaron, a su vez, alta *ACE* para el rendimiento de etanol a partir del grano. Pero solo H<sub>5x2</sub> (LP214 x LP661) presentó rendimiento de grano mayor a la media general y H<sub>4x1</sub> (LP923 x LP2542) presentó mejor rendimiento de etanol promedio que H<sub>5x2</sub> (LP214 x LP661) y la media general.

El único cruzamiento que presentó *ACE* positiva para rendimiento de biomasa fue H<sub>2x1</sub> (LP661 x LP2542), pero no presentó efectos de *ACE* estadísticamente significativos para rendimiento de etanol a partir de biomasa, aunque sí presentó efectos de *ACE* para celulosa. Este cruzamiento se caracterizó por exhibir un rendimiento de biomasa mayor que la media general.

**Tabla 3.9.** Cuadrados medios del análisis de varianza a través de localidades para características agronómicas según el diseño dialélico de Griffing (1956), método IV de efectos fijos para días al 50% de floración femenina (DFF), altura relativa (AR), peso de 1000 granos (PM), diámetro de la espiga (DES), longitud de la espiga (LES), número de hileras (NH), pesos seco de tallos y hojas (PSTH), de chalas (PSC), y de marlos (PSM), rendimiento de grano (RG), rendimiento de biomasa (RB) e Índice de cosecha (IC).

| FV       | GL | DFF                          | AR                            | PM                            | DES                       | LES                        | NH                         | PSTH                       | PSC                       | PSM                       | RG                         | RB                          | IC                           |
|----------|----|------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|---------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|---------------------------|---------------------------|----------------------------|-----------------------------|------------------------------|
| Unidad   | -  | Días                         | -                             | G                             | ----- cm -----            |                            | Número                     |                            |                           |                           |                            |                             | -                            |
| Amb      | 3  | <b>2713,09<sup>***</sup></b> | <b>3,08E-02<sup>***</sup></b> | <b>17622,68<sup>***</sup></b> | <b>0,46<sup>***</sup></b> | <b>25,46<sup>***</sup></b> | <b>1,00<sup>*</sup></b>    | <b>72,55<sup>***</sup></b> | <b>0,66<sup>***</sup></b> | <b>1,09<sup>***</sup></b> | <b>63,90<sup>***</sup></b> | <b>159,02<sup>***</sup></b> | <b>7,6E-02<sup>***</sup></b> |
| Rep(Amb) | 4  | 4,95 <sup>ns</sup>           | 4,70E-04 <sup>ns</sup>        | 293,53 <sup>ns</sup>          | 0,01 <sup>ns</sup>        | 0,82 <sup>ns</sup>         | 0,88 <sup>*</sup>          | 0,88 <sup>ns</sup>         | 0,15 <sup>**</sup>        | 0,15 <sup>*</sup>         | 1,47 <sup>ns</sup>         | 1,93 <sup>ns</sup>          | 9,8E-04 <sup>ns</sup>        |
| Gen.     | 14 | <b>13,03<sup>*</sup></b>     | <b>1,22E-02<sup>***</sup></b> | <b>5340,64<sup>***</sup></b>  | <b>0,21<sup>***</sup></b> | <b>8,21<sup>***</sup></b>  | <b>10,51<sup>***</sup></b> | <b>8,39<sup>***</sup></b>  | <b>0,26<sup>***</sup></b> | <b>0,31<sup>***</sup></b> | 4,57 <sup>ns</sup>         | <b>14,18<sup>***</sup></b>  | <b>1,4E-02<sup>***</sup></b> |
| ACG      | 4  | <b>19,74<sup>***</sup></b>   | <b>2,60E-02<sup>***</sup></b> | <b>9700,07<sup>***</sup></b>  | <b>0,38<sup>***</sup></b> | <b>13,17<sup>***</sup></b> | <b>19,03<sup>***</sup></b> | <b>17,51<sup>***</sup></b> | <b>0,48<sup>***</sup></b> | <b>0,58<sup>***</sup></b> | <b>3,70<sup>*</sup></b>    | <b>28,33<sup>**</sup></b>   | <b>2,8E-02<sup>***</sup></b> |
| ACE      | 10 | <b>7,66<sup>*</sup></b>      | <b>1,16E-03<sup>*</sup></b>   | <b>1853,09<sup>***</sup></b>  | <b>0,07<sup>***</sup></b> | <b>4,24<sup>***</sup></b>  | <b>3,69<sup>***</sup></b>  | <b>1,09<sup>*</sup></b>    | 0,08 <sup>ns</sup>        | 0,10 <sup>ns</sup>        | <b>5,26<sup>**</sup></b>   | 2,86 <sup>ns</sup>          | 1,9E-03 <sup>ns</sup>        |
| Gen*Amb  | 42 | <b>5,27<sup>**</sup></b>     | <b>7,93E-04<sup>*</sup></b>   | 317,44 <sup>ns</sup>          | <b>0,02<sup>*</sup></b>   | 0,77 <sup>ns</sup>         | 0,59 <sup>ns</sup>         | <b>0,74<sup>*</sup></b>    | 0,05 <sup>ns</sup>        | 0,06 <sup>ns</sup>        | <b>2,65<sup>**</sup></b>   | 1,89 <sup>ns</sup>          | <b>2,5E-03<sup>**</sup></b>  |
| ACG*Amb  | 12 | <b>6,64<sup>***</sup></b>    | <b>1,13E-03<sup>**</sup></b>  | <b>384,97<sup>*</sup></b>     | <b>0,03<sup>*</sup></b>   | <b>1,02<sup>*</sup></b>    | <b>0,69<sup>*</sup></b>    | <b>0,97<sup>*</sup></b>    | 0,06 <sup>ns</sup>        | 0,07 <sup>ns</sup>        | 2,08 <sup>ns</sup>         | <b>2,51<sup>*</sup></b>     | <b>2,3E-03<sup>*</sup></b>   |
| ACE*Amb  | 30 | 4,17 <sup>ns</sup>           | 5,25E-04 <sup>ns</sup>        | 263,41 <sup>ns</sup>          | 0,02 <sup>ns</sup>        | 0,57 <sup>ns</sup>         | 0,50 <sup>ns</sup>         | 0,55 <sup>ns</sup>         | 0,04 <sup>ns</sup>        | 0,06 <sup>ns</sup>        | <b>3,11<sup>**</sup></b>   | 1,39 <sup>ns</sup>          | <b>2,7E-03<sup>**</sup></b>  |
| Error    | 56 | 2,53                         | 4,57E-04                      | 205,90                        | 0,01                      | 0,48                       | 0,37                       | 0,43                       | 0,04                      | 0,05                      | 1,20                       | 1,31                        | 1,0E-03                      |
| X        | —  | 76,89                        | 0,42                          | 282,8                         | 4,95                      | 17,51                      | 17,59                      | 6,60                       | 0,90                      | 1,6                       | 9,89                       | 7,48                        | 0,51                         |
| DE       | —  | 10,68                        | 0,05                          | 37,3                          | 0,23                      | 1,52                       | 1,19                       | 2,05                       | 0,31                      | 0,36                      | 2,14                       | 3,02                        | 0,08                         |
| IB       | —  | 0,76                         | 0,81                          | 0,91                          | 0,75                      | 0,86                       | 0,91                       | 0,78                       | 0,92                      | 0,92                      | 0,57                       | 0,95                        | 0,63                         |

Gen: Genotipos; EE: Error estándar; FV: Fuente de variación; Amb: Ambiente; Rep(Amb): Repetición anidada dentro de los ambientes; Gen: Genotipo; ACG: Aptitud combinatoria general; ACE: Aptitud combinatoria específica; Gen\*Amb: Interacción del genotipo con el ambiente; ACG\*Amb: interacción de la ACG con el ambiente ACE\*Amb: interacción de la ACE con el ambiente; X: media general; DE: desvío estándar, IB: índice de Baker,<sup>ns</sup> No significativa; \* Significancia a un nivel de probabilidad de 0,05; \*\* Significancia a un nivel de probabilidad de 0,01; \*\*\* Significancia a un nivel de probabilidad de 0,001. En negrita se resaltan los cuadrados medios significativos ( $p - valor < 0,05$ )

**Tabla 3.10** Efectos de *ACG* (aptitud combinatoria general) y *ACE* (Aptitud combinatoria específica) de líneas e híbridos para características agronómicas y productivas obtenidos mediante un diseño genético dialélico de Griffing (1956), método IV de efectos fijos para días al 50% de floración femenina (DFF), altura relativa (AR), peso de 1000 granos (PM), diámetro de la espiga (DES), longitud de la espiga (LES), número de hileras (NH), pesos seco de tallos y hojas (PSTH), de chalas (PSC), y de marlos (PSM), rendimiento de grano (RG), rendimiento de biomasa (RB) e Índice de cosecha (IC).

| Gen  | <i>ACG</i> |        |        |        |        |       | <i>ACE</i>       |                  |                  |                  |                  |                  |                  |                  |                  |                  | EE    |
|------|------------|--------|--------|--------|--------|-------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|-------|
|      | L1         | L2     | L3     | L4     | L5     |       | 1                | 2                | 3                | 4                | 5                | 6                | 7                | 8                | 9                | 10               |       |
| Var, | LP2542     | LP661  | LP29   | LP923  | LP214  | EE    | H <sub>3x2</sub> | H <sub>3x1</sub> | H <sub>4x3</sub> | H <sub>5x3</sub> | H <sub>5x2</sub> | H <sub>5x1</sub> | H <sub>5x4</sub> | H <sub>4x2</sub> | H <sub>4x1</sub> | H <sub>2x1</sub> | EE    |
| DFF  | —          | —      | —      | 1,080  | -1,190 | 0,184 | -0,750           | -0,620           | —                | 1,217            | —                | —                | -0,720           | —                | —                | 0,650            | 0,356 |
| AR   | —          | 0,040  | -0,040 | 0,013  | -0,020 | 0,002 | —                | —                | -0,010           | —                | -0,008           | -0,010           | 0,014            | —                | —                | —                | 0,005 |
| PM   | 7,239      | 6,930  | 11,30  | 6,536  | -32,00 | 1,657 | 15,840           | -0,770           | 3,512            | -18,60           | 0,968            | 8,152            | 9,466            | -11,20           | -1,770           | -5,61            | 3,209 |
| DES  | 0,130      | 0,100  | -0,030 | -0,123 | -0,080 | 0,013 | 0,082            | -0,080           | —                | -0,040           | -0,072           | 0,068            | 0,048            | -0,050           | —                | 0,045            | 0,026 |
| LES  | 0,792      | -0,150 | 0,310  | —      | -1,00  | 0,080 | 0,430            | 0,687            | -0,540           | -0,570           | —                | -0,300           | 0,750            | —                | —                | -0,370           | 0,156 |
| NH   | 0,141      | —      | 0,460  | -1,289 | 0,795  | 0,070 | —                | —                | 0,258            | —                | -0,522           | —                | 0,638            | -0,290           | -0,610           | 0,775            | 0,136 |
| PSTH | —          | 0,720  | —      | 0,464  | -1,26  | 0,076 | 0,365            | —                | —                | -0,400           | —                | —                | —                | -0,280           | —                | —                | 0,146 |
| PSC  | -0,147     | 0,160  | —      | 0,068  | -0,110 | 0,024 | —                | —                | 0,136            | —                | —                | —                | —                | —                | —                | —                | 0,046 |
| PSM  | 0,093      | 0,160  | —      | —      | -0,210 | 0,027 | —                | —                | —                | —                | —                | —                | —                | —                | —                | —                | 0,052 |
| RB   | —          | 0,650  | —      | 0,972  | -1,550 | 0,132 | —                | —                | —                | —                | —                | -0,550           | —                | -0,650           | —                | 0,501            | 0,256 |
| RG   | 0,225      | -0,430 | -0,280 | 0,416  | —      | 0,127 | —                | —                | —                | —                | 1,026            | -0,680           | —                | -0,760           | 0,458            | —                | 0,245 |
| IC   | —          | -0,030 | —      | -0,016 | 0,050  | 0,004 | 0,014            | —                | —                | —                | —                | —                | —                | —                | 0,015            | -0,020           | 0,007 |

Gen: Genotipos; EE: Error estándar. Se omiten los efectos con un valor de probabilidad asociado menor a un  $\alpha$ : 0,1

## Discusión

El objetivo del presente capítulo fue estimar los efectos de aptitud combinatoria general y específica a través de ambientes de las líneas seleccionadas e identificar los cruzamientos con mayor rendimiento de etanol de primera y segunda generación y rendimiento de grano y biomasa. En lo que respecta a rendimiento de etanol a partir de grano y caracteres asociados a la calidad, se observó una prevalencia de efectos aditivos para la concentración de almidón, coincidente con las de otros autores (Osorno y Carena 2008; Machida *et al.*, 2010; Werle *et al.*, 2014; Sharma y Carena, 2016; Bhusal *et al.*, 2020). Sin embargo, no se halló este tipo de efectos (*ACG*) para las concentraciones de proteína y aceite como los publicados en otros estudios (Werle *et al.*, 2014; Bari y Carena 2015; Bhusal *et al.*, 2020). De acuerdo a lo expuesto en esta Tesis, en el germoplasma evaluado las concentraciones de proteína y aceite están dados por efectos de tipo no aditivo (*ACE*) como los reportados previamente por otros autores, tanto con presencia de interacción genotipo por ambiente (Laude y Carena, 2014) y sin presencia de interacción genotipo por ambiente (Limbikai *et al.*, 2014; Mahesh *et al.*, 2014). Estos resultados fueron validados con el enfoque de regresión padre- progenie, donde solo pudo estimarse con precisión el comportamiento promedio de la progenie a través de los parentales para la concentración de almidón y rendimiento de etanol a partir de grano y a su vez por los niveles de heterosis estimados mayores al 20% para la concentración de proteína. Ambos enfoques apoyan la prevalencia de efectos de tipo aditivo para concentración de almidón y rendimiento de etanol a partir de grano y de efectos no aditivos para las concentraciones de proteína y aceite.

En relación a los caracteres asociados a DQCB y rendimiento de biomasa, se identificó presencia de interacción genotipo por ambiente para todos los atributos estudiados. La significancia de los efectos de aptitud combinatoria general por el ambiente (*ACG x Ambiente*) hallada fue semejante a la reportada por Lorenz *et al.*, (2010). A su vez, se identificó la presencia de efectos de tipo no aditivos influenciados por el ambiente (*ACE x Ambiente*), coincidentes con los publicados por otros referentes (Dhillon *et al.*, 1990; Argillier *et al.*, 1995; Argillier *et al.*, 2000).

Con respecto a los genotipos parentales, las líneas L<sub>3</sub> (LP29) y L<sub>5</sub> (LP214) presentaron las mayores capacidades de combinarse con otras líneas para el rendimiento de etanol a partir de grano y de biomasa, respectivamente. Sin embargo, la línea L<sub>1</sub> (LP2542) se destacó por presentar *ACG* positiva para más de un carácter objetivo mostrando *ACG* alta y positiva para

el rendimiento de grano, rendimiento de etanol a partir de grano y de biomasa. Las líneas L<sub>2</sub> (LP661) y L<sub>4</sub> (LP923) exhibieron *ACG* negativas para rendimiento de etanol, tanto a partir del grano como de biomasa, aunque mostraron que sus *ACGs* aportaron de forma positiva a la media del rendimiento de biomasa y de grano.

Asimismo, fue importante la evaluación de si las combinaciones híbridas serían capaces de presentar altos rendimientos de etanol de primera y/o segunda generación y rendimiento de grano y/o biomasa respectivamente, ya que para maximizar la producción de bioetanol por hectárea, es necesario conciliar en un mismo genotipo alto rendimiento de etanol por unidad de masa procesada en la biorrefinería (grano y/o biomasa) con alto rendimiento de materia prima (grano y/o biomasa) por hectárea producida. Para la producción de bioetanol de primera generación se identificó como promisorio el híbrido H<sub>2x1</sub> (LP661 x LP2542) por presentar valores promedios mayores a la media general tanto para rendimiento de grano como rendimiento de etanol a partir del grano. Sin embargo, para la producción de bioetanol de segunda generación no se hallaron cruzamientos que simultáneamente presenten un valor fenotípico superior a la media general para rendimiento de etanol a partir de biomasa y rendimiento de biomasa.

Los cruzamientos que presentaron rendimientos de etanol a partir de grano superiores a la media general (H<sub>2x1</sub>; H<sub>4x1</sub>; H<sub>4x3</sub>; H<sub>5x1</sub>; H<sub>5x3</sub>) se explicaron por los efectos de *ACG* altos y positivos de alguno de sus parentales L<sub>1</sub> (LP 2542) o L<sub>3</sub> (LP29) y por sus efectos de *ACE* altos y positivos. Sin embargo, el híbrido H<sub>3x1</sub> (LP29 x LP2542) conformado los parentales con *ACG* mas alta no superó el valor promedio para este carácter debido a su bajo valor de *ACE*. En líneas generales, se evidenció un importante aporte de *ACG* de forma positiva a la media del carácter y en conjunto con los resultados del análisis de regresión padre-progenie ponen en manifiesto la importancia de los efectos aditivos para rendimiento de etanol a partir de grano. De acuerdo a los resultados obtenidos, la selección a favor del rendimiento de etanol y/o selección indirecta mediante la contracción de almidón es factible ya que el control genético de estos caracteres es fundamentalmente de tipo aditivo.

Los cruzamientos con rendimientos de etanol a partir de biomasa (REB) superiores a la media general (H<sub>5x1</sub>; H<sub>5x3</sub>; H<sub>5x2</sub> y H<sub>5x4</sub>) presentaron siempre como uno de sus progenitores al parental L<sub>5</sub> (LP214). El elevado REB de H<sub>5x1</sub> estuvo dado por los efectos altos y positivos de la *ACG* de sus parentales, a diferencia del caso del híbrido H<sub>5x3</sub> que estuvo dado por la contribución de *ACG* del parental L<sub>1</sub> y alta *ACE* proveniente de la combinación híbrida. No

obstante, la mayor *ACE* la presentó H<sub>5x4</sub> pero su valor fenotípico fue menor debido a que los efectos de *ACG* de sus parentales fueron de valor absoluto similar, pero con signo opuesto. Los híbridos que presentaron mayores efectos de *ACE* para FDN, FDA, celulosa y rendimiento de etanol a partir de biomasa también presentaron altos niveles de heterosis a partir del promedio de los parentales mostrando la importancia de los efectos de tipo no aditivo para estas variables. En consecuencia, los altos valores fenotípicos en estos genotipos podrían atribuirse a la interacción interlocus. A su vez, no se identificó ninguna línea que presentara efectos de *ACG* positivos tanto para rendimiento de etanol a partir de biomasa como para rendimiento de biomasa. Similares resultados fueron hallados por Lorenz *et al.*, (2009-b) evaluando también germoplasma de origen argentino.

En la industria de biocombustibles lignocelulósicos existe un consenso general respecto a que el mayor obstáculo en el aumento de la producción es la recalcitrancia de las paredes celulares lignificadas en el proceso de hidrólisis enzimática (Weijde *et al.*, 2013). Las soluciones planteadas en la literatura radican en el avance tecnológico de la industria, a través de la identificación de nuevas enzimas o desarrollo de enzimas transgénicas más eficientes en la degradación de la pared celular y en la modificación de la composición química de la materia prima (Guerrero *et al.*, 2015; Torres *et al.*, 2015). Esta última aproximación podría lograrse a través del mejoramiento genético. Los resultados obtenidos en esta Tesis ponen en evidencia la factibilidad del mismo debido a que todos los caracteres estudiados presentaron variabilidad genética en el germoplasma local evaluado, circunstancia que también ha sido reportada por otros estudios con germoplasma de diferentes fondos genéticos (Lorenz *et al.*, 2009-b, Lewis *et al.*, 2010).

Estos resultados permiten generar las bases para lograr a través del mejoramiento genético híbridos cuya producción resulte en materias primas especialmente aptas para la industria de biocombustibles, que garanticen altos rendimientos con menores costos de producción industrial. La información generada a partir del análisis dialélico proporciona parámetros esenciales para la selección. Mediante la estimación de la *ACG* y la *ACE* se pudo conocer la contribución de cada clase de efectos para cada carácter, como así también la presencia o ausencia de la interacción del genotipo con el ambiente. De acuerdo a lo postulado por Comstock *et al.*, (1949) para aquellas variables donde se detectaron mayores efectos de *ACG*, se propone aprovechar la fracción aditiva disponible mediante cualquier variante de selección recurrente. Por el contrario, para aquellas variables donde se detectó mayores

efectos de *ACE* podría implementarse un programa de selección recurrente recíproca, o de hibridación.

## Conclusión

En este capítulo fue desarrollada y puesta a prueba la hipótesis de que dada la variabilidad genética de las líneas endocriadas seleccionadas del programa de mejoramiento de maíz de INTA es factible la implementación de un programa de mejoramiento enfocado en la producción de bioetanol. Se identificaron con *ACG* alta y positiva a las líneas  $L_1$  (LP2542) y  $L_3$  (LP29) para el rendimiento de bioetanol de primera generación; las líneas  $L_1$  (LP2542) y  $L_5$  (LP214) para el rendimiento de etanol de segunda generación; las líneas  $L_4$  (LP923) y  $L_1$  (LP2542) para el rendimiento de grano y las líneas  $L_4$  (LP923) y  $L_2$  (LP661) para el rendimiento de biomasa. Por lo que la línea  $L_1$  solo contribuye a la producción de etanol a partir de grano por hectárea y no a partir de biomasa debido a su nulo aporte a la productividad de materia seca.

El 50 % de la variabilidad de los valores fenotípicos de la progenie para la concentración de almidón y hemicelulosa pudo ser explicada por el valor fenotípico promedio de los parentales, mostrando una proporción importante de efectos aditivos para estos atributos. Los ACP permitieron caracterizar los efectos de *ACG* y *ACE* en los caracteres asociados a DQCG, DFCG y DQCB a través de los ambientes evaluados e identificar dependencias entre los efectos (*ACG* y *ACE*) que inciden en la producción de etanol de primera y segunda generación. Para el rendimiento de bioetanol de primera generación prevalecieron los efectos de tipo aditivo (*ACG*) y para la producción de etanol de segunda generación estuvieron presentes los efectos aditivos (*ACG*) y no aditivos (*ACE*) con presencia de interacción genotipo por ambiente.

Finalmente, con respecto a la textura de los endospermos se observó heterosis negativa contribuyendo a híbridos de con granos de menor dureza que sus parentales, los cuales, en función de lo demostrado, es una característica que influye positivamente en la producción de biocombustibles de primera generación.



## **CONSIDERACIONES FINALES**

## Consideraciones finales

En este trabajo se evaluó la factibilidad de la implementación de un programa de mejoramiento enfocado en la producción de bioetanol dada la variabilidad genotípica de las líneas seleccionadas del programa de mejoramiento de maíz de INTA.

Para ello resultó necesario determinar los valores fenotípicos mínimos deseables que deberían presentar los cultivares destinados a la industria de bioetanol. Se identificaron dos ideotipos de maíz, destinados a biocombustible de primera (1G) y de segunda generación (2G).

Un cultivar destinado a la industria de bioetanol de 1G con rendimiento de etanol mayor a  $470 \text{ l.Mg}^{-1}$ , debería presentar una composición química del grano que comprenda un mínimo de concentración de almidón de  $71,5 \text{ g.100 g}^{-1}$ , concentración de proteína menor a  $9,0 \text{ g.100.g}^{-1}$ , concentración de aceite menor a  $4,7 \text{ g.100.g}^{-1}$ , un perfil de ácidos grasos con mayores porcentajes de ácido linoleico y menores porcentajes de ácidos palmítico y oleico. La textura del endospermo debe ser de tipo suave o harinosa presentando peso hectolítrico menor a  $76,0 \text{ kg.h}^{-1}$ , relación de molienda menor a 3,8, índice de flotación mayor a 70% y densidad de grano menor a  $1,2 \text{ g.ml}^{-1}$ . Estas características presentaron correlación fenotípica, genotípica y genética con rendimiento de etanol a partir de grano con excepción de la correlación fenotípica entre el rendimiento de etanol a partir de grano y la densidad de grano. Los caracteres asociados a las características químicas de calidad de biomasa pueden ser desestimados debido a que solo FDA y celulosa presentaron correlación genética baja y negativa con rendimiento de etanol a partir de grano. En relación a las características agronómicas y productivas son deseables materiales con rendimientos competitivos sin que provoquen un detrimento en el rendimiento de etanol, que podría lograrse explotando la correlación genotípica existente entre el rendimiento de bioetanol de 1G con el peso de mil granos, la longitud y el diámetro de la espiga.

Un cultivar destinado a la industria de bioetanol de 2G con rendimiento de etanol mayor a  $519,7 \text{ l.Mg}^{-1}$ , debería presentar una composición química de la biomasa con una concncetración de FDN mayor a  $80 \text{ g.100.g}^{-1}$  y FDA mayor a  $42,7 \text{ g.100.g}^{-1}$ . El cultivar ideal debería presentar alta concentración de carbohidratos con alta digestibilidad y la menor concentración de lignina posible. Todos los caracteres mencionados presentaron correlaciones fenotípica, genotípica y genética con rendimiento de etanol a partir de biomasa, menos LDA, hemicelulosa y digestibilidad *in vitro* de la fibra que no presentaron

correlación genotípica y digestibilidad de FDN que solo presentó correlación genética. Con respecto a las características agronómicas y productivas son deseables materiales con alta producción de biomasa, aunque la correlación entre el peso seco de la biomasa y el rendimiento de bioetanol de 2G fue negativa. Sin embargo, en la industria de biocombustibles lignocelulósicos existe un consenso general de que el mayor obstáculo en el aumento de la producción es la recalcitrancia de las paredes celulares lignificadas en el proceso de hidrólisis enzimática por lo que los mayores esfuerzos de los programas de mejoramiento deberían enfocarse en los parámetros de calidad de biomasa y no en el rendimiento de la misma.

En función a los resultados obtenidos mediante el diseño dialélico, las *ACG* de los parentales sugieren que a partir de una misma población biparental formada por las líneas  $L_3$  (LP29) y  $L_5$  (LP214) podrían identificarse QTLs asociados para rendimiento de etanol a partir de grano y de biomasa ya que son contrastantes para estas características. Asimismo, podría generarse una población biparental a partir de las líneas  $L_1$  (LP2542) y  $L_4$  (LP923) para hallar QTLs asociados a la producción de bioetanol por hectárea ya que  $L_1$  (LP2542) aporta para el rendimiento de etanol de grano y de biomasa y LP923 contribuye al rendimiento de grano y biomasa.

La mejora simultánea de los caracteres podrá obtenerse por diversos métodos como la selección en tándem, niveles independientes de selección o mediante un índice de selección. En el caso del germoplasma estudiado en esta Tesis, al realizarse una caracterización fenotípica exhaustiva la implementación de índices de selección tomando como base para su construcción la información generada será la estrategia más apropiada.

Los resultados obtenidos en la presente Tesis son el punto de partida para lograr, a través del mejoramiento genético, híbridos cuya producción resulte en materias primas especialmente desarrolladas para la industria de biocombustibles, que garanticen altos rendimientos con los menores costos de producción a partir del germoplasma de maíz del programa de mejoramiento genético de la EEA INTA Pergamino.

**Bibliografía**

AACC. (1995). Approved methods of the American Association of Cereal Chemists. 9th Edn. St. Paul, MN: The association

Abas N., Kalair, A., and Khan N. (2015). Review of fossil fuels and future energy technologies. *Futures*, 69, 31-49.

Acevedo A., y Cruzate G. A. (2018). Residuos de cosecha con fines bioenergéticos: el rastrojo de maíz. En Brutti L., Beltrán M., García de Salamone I., Biorremediación de los recursos naturales - 1a ed. - Buenos Aires: Ediciones INTA, p. 312-326

Acquaah G. (2009). Principles of plant genetics and breeding. John Wiley & Sons.

Aldaz Berruezo J. y Díaz Jiménez J. (2017). Situación del Convenio Marco de Naciones Unidas sobre el cambio climático. Resumen de las Cumbres de París, COP 21 y de Marrakesh, COP 22. *Rev. salud ambient* 17(1):34-39.

Aldrich S.R., Scott W.O and Leng E.R. (1975). "Modern corn Production", 2<sup>nd</sup> ed. Champaign, IL, USA, A & L Publications.

Alegre M., Copia P. A., Di Martino A. M., Raso H. (2014). Uso de metodologías de laboratorio para la evaluación de rendimiento potencial de etanol en maíz. [https://inta.gob.ar/sites/default/files/inta\\_pergamino\\_alegre2014usodemetodologiascompromido.pdf](https://inta.gob.ar/sites/default/files/inta_pergamino_alegre2014usodemetodologiascompromido.pdf) (disponible agosto 2020)

Almodares A., and Hadi M. R. (2009). Production of bioethanol from sweet sorghum: A review. *African Journal of Agricultural Research*, 4(9), 772-780.

Alrefai R., Berke T. G., and Rocheford T. R. (1995). Quantitative trait locus analysis of fatty acid concentrations in maize. *Genome*, 38(5), 894–901. doi:10.1139/g95-118

Alvarado G., López M., Vargas M.,; Angela Pacheco A., Rodríguez F., Burgueño J., Crossa J. (2016). META-R (Multi Environment Trial Analysis with R for Windows.) Version 6.0. <http://hdl.handle.net/11529/10201> International Maize and Wheat Improvement Center

Alvarez R., & De Paepe J. L. (2019). Modelling the effects of stover harvest on soil organic carbon in the Pampas of Argentina. *Soil Research*, 57(3), 257-265.

Andri et mult. al. S (2021). DescTools: Tools for Descriptive Statistics. R package version 0.99.41, <https://cran.r-project.org/package=DescTools>.

AOCS. (1998). Association of Official Analytical Chemists. Official methods of analysis. 16 th ed. Washington DC, EEUU.

Argillier O., Barrière Y., and Hèbert Y. (1995). Genetic variation and selection criterion for digestibility traits of forage maize. *Euphytica* 82:175-184.

Argillier O., Mechin V. and Barrière Y. (2000). Inbred line evaluation for digestibility related traits in forage maize. *Crop Science*. 40:1596-1600.

Atkins P. W. and Jones L. (2006). Principios de química: los caminos del descubrimiento. Ed. Médica Panamericana. pp 220

Bajpai P. (2013). *Advances in bioethanol*. Springer Science & Business Media.

Bari M. A. A., and Carena M. J. (2015). Can expired proprietary maize (*Zea mays* L.) industry lines be useful for short-season breeding programs? I. grain quality and nutritional traits. *Euphytica*, 202(1), 157-171.

Barriere Y. and Argillier O. (1993). Brown-midrib genes of maize: a review. *Agronomie*, 13(10), 865-876.

Barrière Y., Guillet C., Goffner D., and Pichon M. (2003). Genetic variation and breeding strategies for improved cell wall digestibility in annual forage crops. A review. *Anim. Res.* 52, 193–228. doi: 10.1051/animres:2003018

Barros-Ríos J., Malvar R. A., and Santiago R. (2011). Función de la pared celular del maíz (*Zea mays* L.) como mecanismo de defensa frente a la plaga del taladro (*Ostrinia nubilalis* Hüb. y *Sesamia nonagrioides* Lef.). *Revista de Educación Bioquímica*, 30(4), 132-142.

BeMiller J. N. (2019). Corn Starch Modification. In *Corn* (pp. 537-549). AACC International Press.

Bertoia L. M., and Aulicino M. B. (2014). Maize forage aptitude: Combining ability of inbred lines and stability of hybrids. *The Crop Journal*. Volume 2. Issue 6. pp 407–418

Betran F. J., Ribaut J. M., Beck D., Gonzalez De Leon D. (2003). Genetic diversity, specific combining ability, heterosis in tropical maize under stress and non-stress environments. *Crop Sci.* 43, 797–806.

Bhusal T. N., and Lal G. M. (2020). Heterosis, Combining Ability and Their Inter-Relationship for Morphological and Quality Traits in Yellow Maize (*Zea mays* L.) Single-Crosses Across Environments. *AGRIVITA, Journal of Agricultural Science*, 42(1), 174-190.

Birrell S.J., Karlen D. L., and Wirt A. (2014). Development of sustainable corn stover harvest strategies for cellulosic ethanol production. *BioEnergy Research*, 7(2), 509-516.

Bolsa de cereales de Buenos Aires. Informe cierre de campaña, Maíz 2018-19. Departamento de estimaciones estadísticas. Disponible en: <http://www.bolsadecereales.com/ver-cierre-de-campana-105> . Consultado 29 de abril de 2020

Bothast R. J. and Schlicher M. A. (2005). Biotechnological processes for conversion of corn into ethanol. *Applied microbiology and biotechnology*, 67(1), 19-25.

Boulton B., Singleton V., Bisson L. and Kunkee R. (1996). Yeast and biochemistry of ethanol fermentation. En Principles and practices of winemaking. Boulton, B. Singleton, V. Bisson, L. and Kunkee, R. Chapman and Hall. New York. 139 – 172

Cardona E. M., Rios L. A., and Peña J. D. (2012). Disponibilidad de variedades de pastos y forrajes como potenciales materiales lignocelulósicos para la producción de bioetanol en Colombia. Información tecnológica, 23(6), 87-96.

Carrete J. R. y Scheneiter O. (2012). Maíz para ensilaje. En Eyherabide, G. H. Bases para el manejo del cultivo de maíz (235-250). Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria Argentina.

Castillo-Castillo R., Ramírez-Córdova J., Herrera-López E., Barrera-Cortés J. y Melchor A. (2007). Aumento de la producción de etanol por la adición de ácidos grasos en jugo de *agave tequilana* weber var. Azul. XII Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería. Congreso llevado a cabo en Morelia, Michoacán México. Disponible en [https://smbb.mx/congresos%20smbb/morelia07/TRABAJOS/Area\\_III/Orales/OIII-20.pdf](https://smbb.mx/congresos%20smbb/morelia07/TRABAJOS/Area_III/Orales/OIII-20.pdf)

Cirilo A. G., Andrade F. H., Otegui M. E., Maddoni G. A., Vega C., y Valentinuz O. R. (2012). Ecofisiología del cultivo de maíz. En Eyherabide, G. H. Bases para el manejo del cultivo de maíz (25-56). Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria Argentina.

Comstock R. E., Robinson H. F., and Harvey P. H. (1949). A breeding procedure designed to make maximum use of both general and specific combining ability 1. Agronomy Journal, 41(8), 360-367.

Cook J. P., McMullen M. D., Holland J. B., Tian F., Bradbury P., Ross-Ibarra J., and Flint-Garcia S. A. (2012). Genetic architecture of maize kernel composition in the nested association mapping and inbred association panels. Plant physiology, 158(2), 824-834.

Coors J. G. and Lauer J. G. (2001). Silage corn. p. 347–392. In A.R. Hallauer (ed.) Specialty corns. 2nd ed. CRC Press, Boca Raton, FL.

Correa C. E. S., Shaver R. D., Pereira M. N., Lauer J. G., and Kohn K. (2002). Relationship between corn vitreousness and ruminal in situ starch degradability. Journal of Dairy Science, 85(11), 3008-3012.

Darim R. A., Azizan A., and Salihon J. (2015). A Review on the advancement of online monitoring system for cellulosic ethanol production. Advanced Materials Research, 1113.

DeJong-Hughes J. and Coulter J. (2009). Considerations for corn residue harvest in Minnesota <https://www.extension.umn.edu/agriculture/corn/harvest/considerations-for-corn-residue-harvest/> (verified 15 January 2018).

Delcour, J. A., & Hoseney, R. C. (2010). Principles of cereal science and technology.

Delucchi C., Percibaldi N. M., Trejo M., & Eyherabide G. (2019). Mejoramiento genético del perfil de ácidos grasos del aceite de maíz. Ediciones INTA.

Dey P. M., Brownleader M. D. and Hardbone J. B. (1997). The Plant, the Cell and its Molecular Components pag 1-31 Plant biochemistry Dey, P.M., & Hardbone, J.B. (Eds.).(1997). Elsevier

Dhillon, B. S., C. Paul, E. Zimmer, P.A. Gurrath, D. Klein, and W.G. Pollmer. (1990). Variation and covariation in stover digestibility traits in diallel crosses of maize. *Crop Sci.* 30:931-936.

Di Martino A. M.; Percibaldi N. M.; Alegre M. y Moro M. S. (2018) NIRs laboratory at inta pergamino: industrial quality in maize for bioenergy hybrids for silage. XI Congreso Nacional de Maíz, Pergamino Buenos Aires.

Dien B. S., Bothast R. J., Iten L. B., Barrios L. & Eckhoff S. R. (2002). Fate of Bt protein and influence of corn hybrid on ethanol production. *Cereal chemistry*, 79(4), 582-585.

Dombrink-Kurtzman M. A. and Bietz J. A. (1993). Zein composition in hard and soft endosperm of maize. *Cereal Chem.* 70: 105-108.

Donald C. T. (1968). The breeding of crop ideotypes. *Euphytica*, 17(3), 385-403.

Doran-Peterson J., Jangid A., Brandon S. K., DeCrescenzo-Henriksen E., Dien, B., & Ingram, L. O. (2009). Simultaneous saccharification and fermentation and partial saccharification and co-fermentation of lignocellulosic biomass for ethanol production. In *Biofuels* (pp. 263-280). Humana Press, Totowa, NJ

Dowswell C. (2019). Maize in the third world. CRC Press.

Dudley J. W., Lambert R. J. & Alexander D. E. (1974). Seventy generations of selection for oil and protein concentration in the maize kernel. Seventy generations of selection for oil and protein in maize, 181-212.

Dudley J. W. (2007). From means to QTL: The Illinois long-term selection experiment as a case study in quantitative genetics. *Crop Science*, 47, S-20.

Dudley J. W. (2008). Epistatic interactions in crosses of Illinois high oil× Illinois low oil and of Illinois high protein× Illinois low protein corn strains. *Crop science*, 48(1), 59-68.

Duvick D. N. (1961). Protein granules of maize endosperm cells. *Cereal Chem.* 38: 374-385

Elander R. T. & Putsche V. L. (1996) Ethanol from corn: technology and economics. En: Wyman, C. (pp. 329-249) Handbook on bioethanol: production and utilization. CRC press.

Eliasson A. C. (2017). Starch: physicochemical and functional aspects. In *Carbohydrates in food* (pp. 480-547). CRC Press.

Eyhérabide G.H., Robutti J. L., Puig R. C., Luqui B. (1996) Caracterización de la calidad física del grano de cultivares argentinos de maíz. Informe técnico N° 313. ISSN 0325-1799

Eyhérabide G.H., Percibaldi, N.M., Borrás, F.S., y Presello, D.A. (2005). Mejoramiento de la calidad nutricional del aceite de maíz mediante el desarrollo y selección recurrente intrapoblacional. Proceedings del VIII Congreso Nacional de Maíz, 16 a 18 de Noviembre de 2005, Rosario, Argentina, 336-339

Eyhérabide G., Borrás F., Robutti J., Presello D. & White P. (2007-a). Gelatinization and retrogradation traits of starches from Argentinian maize inbred lines: Patterns of correlation among traits. *Cereal chemistry*, 84(3), 220-224.

Eyhérabide G., Borrás F., Robutti J., Presello D., & White P. (2007-b). Characterization of thermal traits of starches from Argentinian maize inbreds: genotypic and crop year variability. *Cereal chemistry*, 84(1), 92-96.

Eyhérabide G. (2014). Genética y mejoramiento aplicados al desarrollo de maíz para bioetanol. Actas X Congreso Nacional de Maíz. AIANBA. Rosario, 3 al 5 de septiembre de 2014.

FADA. Fundación agropecuaria para el desarrollo de Argentina (2019). Maíz 360°, Análisis de Argentina y el Mundo. Disponible en: <http://fundacionfada.org/informes/maiz-360-analisis-de-argentina-y-el-mundo/> . Consultado: 29 de abril de 2020.

Falconer D. S., Mackay Trudy F. C. (1996). Introducción a la Genética Cuantitativa. Editorial ACRIBIA (Zaragoza, España), Cuarta edición, reimpresión 2006.

Ferguson V. (2001). High amylose and waxy corns. In *Specialty corns* (pp. 75-96). CRC Press.

Fox J. and Weisberg S. (2011). An {R} Companion to Applied Regression, Second Edition. Thousand Oaks CA: Sage. URL: <http://socserv.socsci.mcmaster.ca/jfox/Books/Companion>

Franco A. G., Yépes P. N. M., & Sánchez H. A. V. (2009). Pretratamientos de la celulosa y biomasa para la sacarificación. *Scientia et technica*, 15(42), 284-289.

Gabbott P. (2008). A Practical Introduction to Differential Scanning Calorimetry. En: Gabbott P (ed) *Principles and Applications of Thermal Analysis*, pp 1-50. Blackwell Publishing Ltd, Oxford, UK

Gabriel K. R. (1971). The biplot graphic display of matrices with application to principal component analysis. *Biometrika*, 58(3), 453-467.

Gabrielsen B. C. (1986). Evaluation of marketed cellulases for activity and capacity to degrade forage. *Agron J* 78: 838-842



García-Lara S., Chuck-Hernandez C. & Serna-Saldivar S. O. (2019). Development and Structure of the Corn Kernel. In Corn (pp. 147-163). AACC International Press.

Gayral M., Gaillard C., Bakan B., Dalgallarrondo M., Elmorjani K., Delluc C., Marion D. (2016). Transition from vitreous to flourey endosperm in maize ( *Zea mays* L.) kernels is related to protein and starch gradients. *Journal of Cereal Science*, 68, 148–154. doi:10.1016/j.jcs.2016.01.013

Gerde J. A., Spinozzi J. I., and Borrás L. (2017). Maize Kernel Hardness, Endosperm Zein Profiles, and Ethanol Production. *BioEnergy Research*, 10(3), 760-771

Geweke J. (1992). "Evaluating the Accuracy of Sampling-Based Approaches to Calculating Posterior Moments". In *Bayesian Statistics 4* (ed JM Bernardo, JO Berger, AP Dawid, and AFM Smith). Clarendon Press, Oxford, UK

Gibbon B. C. & Larkins B. A. (2005). Molecular genetic approaches to developing quality protein maize. *TRENDS in Genetics*, 21(4), 227-233.

Gibbons W. & Hughes S., (2011). Integrated biorefineries with engineered microbes and high-value co-products for profitable biofuels production. In *Biofuels* (pp. 265-283). Springer, New York, NY.

Goldman I. L., Rocheford T. R. & Dudley J. W. (1993). Quantitative trait loci influencing protein and starch concentration in the Illinois long term selection maize strains. *Theoretical and Applied Genetics*, 87(1-2), 217-224.

Goldman I. L, Rocheford T.R., Dudley J.W. (1994) Molecular markers associated with maize kernel oil concentration in an Illinois high protein x Illinois low protein cross. *Crop Sci* 34:908–915

Gould K. (2007). Corn stover harvesting. Cattle Call 12-2. Michigan State University.

Grant Reid J. S. (1997). *Carbohydrate Metabolism: Structural Carbohydrates* pag 205-235. Plant biochemistry Dey, P.M., & Harbone, J.B. (Eds.). Elsevier

Griffing B. (1956-a). A generalised treatment of the use of diallel crosses in quantitative inheritance. *Heredity*, 10, 31-50

Griffing B. (1956-b). Concept of general and specific combining ability in relation to diallel crossing systems. *Aust. J. Biology Science.*, 9, 463-93.

Groh S., González-de-León D., Khairallah M. M., Jiang C., Bergvinson D., Bohn M., Hoisington D.A., Melchinger A.E. (1998) QTL Mapping in tropical maize: III. Genomic regions for resistance to *Diatraea* spp. and associated traits in two RIL Populations. *Crop Sci* 38:1062–1072

Guerrero B. E., Arneodo Larochette J. D., Bombarda Campanha R., Oliveira P. A. D., Labate M. T. V., Cataldi T. R., & Talia P. M. (2015). Prospection and evaluation of (Hemi) cellulolytic enzymes using untreated and pretreated biomasses in two argentinean native termites.

Guillén M. D., and Ruiz A. (2001). High resolution  $^1\text{H}$  nuclear magnetic resonance in the study of edible oils and fats. *Trends in Food Science & Technology*, 12(9), 328-338

Guo Y., Yang X., Chander S., Yan J., Zhang J., Song T., & Li J. (2013). Identification of unconditional and conditional QTL for oil, protein and starch content in maize. *The Crop Journal*, 1(1), 34-42.

Guo M., Song W., & Buhain J. (2015). Bioenergy and biofuels: history, status, and perspective. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 42, 712-725.

Gutiérrez-Rojas I., Moreno-Sarmiento N., & Montoya D., (2015). Mecanismos y regulación de la hidrólisis enzimática de celulosa en hongos filamentosos: casos clásicos y nuevos modelos. *Revista Iberoamericana de Micología*, 32(1), 1-12.

Gutteling E. W., Doroszuk A., Riksen J. A. G., Prokop Z., Reszka J., & Kammenga J. E. (2007). Environmental influence on the genetic correlations between life-history traits in *Caenorhabditis elegans*. *Heredity*, 98(4), 206-213.

Hallauer A. R. (2001). *Specialty corns*. Boca Raton: CRC Press, p.10.

Hallauer A. R., Carena M. J., & Miranda Filho J. D. (2010). *Quantitative genetics in maize breeding* (Vol. 6). Springer Science & Business Media.

Halvorson A. D., and Johnson J. M. (2009). Corn cob characteristics in irrigated central Great Plains studies. *Agronomy journal*, 101(2), 390-399.

He X., Hall M. B., Gallo-Meagher M., Smith R.L. (2003). Improvement of forage quality by downregulation of maize O-methyltransferase *Crop Science*, 43 pp. 2240–2251.

Himmel M. E. (2007). Biomass recalcitrance: Engineering plants and enzymes for biofuels production (Vol 315, pg 804 ). *Science* 316:982.

Huang H. J., Ramaswamy S., Tschirner U. W., & Ramarao B. V. (2008). A review of separation technologies in current and future biorefineries. *Separation and purification technology*, 62(1), 1-21.

Hunt C. W., Kezar W., & Vinande R. (1992). Yield, Chemical Composition, and Ruminant Fermentability of Corn Whole Plant, Ear, and Stover as Affected by Hybrid. *Journal of production agriculture*, 5(2), 286-290.

Illicka A. & Lukaszewicz J. P. (2015). Discussion remarks on the role of wood and chitin constituents during carbonization. *Frontiers in Materials*, 2, 20

InfoLEG. Información Lesgislativa Biocombustibles. Ministerio de Justicia y Derechos Humanos, Presidencia de la Nación (2020) <http://servicios.infoleg.gob.ar/infolegInternet/anexos/255000-259999/259942/norma.htm>

Ioelovich M. (2014). Correlation analysis of enzymatic digestibility of plant biomass. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 4(3), 269-275.

IRAM 15859:2014 - ICS 67.060 - Cereales. Método de determinación del almidón por la técnica polarimétrica de Ewers modificada.

Jaimes L. J., Giraldo A. M. y Correa H. J. (2018): De Parmentier a Van Soest y más allá: un análisis histórico del concepto y métodos de determinación de la fibra en alimentos para rumiantes. *Livestock Research for Rural Development*. Volume 30, Article #126. Retrieved May 5, 2020, from <http://www.lrrd.org/lrrd30/7/hjco30126.html>

Jellum M. D. (1970) Plant introductions of maize as a source of oil with unusual fatty acid composition. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 18: 365-370.

Ji Y., Seetharaman K. & White P. J. (2004). Optimizing a small-scale corn-starch extraction method for use in the laboratory. *Cereal chemistry*, 81(1), 55-58.

Johnson L. A. (2000). Corn: The major cereal of the Americas. *Food Science And Technology-New York-Marcel Dekker-*, 31-80.

Johnson J. M., Novak J. M., Varvel G. E., Stott D. E., Osborne S. L., Karlen D. L., & Adler P. R. (2014). Crop residue mass needed to maintain soil organic carbon levels: Can it be determined?. *BioEnergy Research*, 7(2), 481-490.

Karlen D. L., Kovar J. L., & Birrell S. J. (2015). Corn stover nutrient removal estimates for central Iowa, USA. *Sustainability*, 7(7), 8621-8634.

Karn A., Gillman J. D., & Flint-Garcia S. A. (2017). Genetic analysis of teosinte alleles for kernel composition traits in maize. *G3: Genes, Genomes, Genetics*, 7(4), 1157-1164.

Kato T. A., Mapes C., Mera L. M., Serratos J. A. & Bye R. A. (2009) Origen y diversificación del maíz: una revisión analítica. Universidad Nacional Autónoma de México, Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México D.F. 116 pp.

Khan M. S., Yin X., Van der Putten P. E., Jansen H. J., Van Eck, H. J., Van Eeuwijk F. A., & Struik P. C. (2019). A model-based approach to analyse genetic variation in potato using standard cultivars and a segregating population. II. Tuber bulking and resource use efficiency. *Field Crops Research*, 242, 107582.

Klami A., Virtanen S., Leppäaho E., and Kaski S. (2014). Group factor analysis. *IEEE transactions on neural networks and learning systems*, 26(9), 2136-2147.

Knutson C. A., Khoo U., Cluskey J. E. & Inglett G. E. (1982). Variation in enzyme digestibility and gelatinization behavior of corn starch granule fractions.

Knutson C. A. (1986). A simplified colorimetric procedure for determination of amylose in maize starches. *Cereal Chemistry*, 63(2), 89-92

Krakowsky M. D., Lee M., and Coors J. G. (2005). Quantitative trait loci for cellwall components in recombinant inbred lines of maize (*Zea mays* L.) I: stalk tissue. *Theor. Appl. Genet.* 111, 337–346. doi: 10.1007/s00122-005-2026-4

Krieger K. M., Duvick S. A., Pollak L. M., & White P. J. (1997). Thermal properties of corn starch extracted with different blending methods: Microblender and homogenizer. *Cereal chemistry*, 74(5), 553

Krueger B. R., Walker C. E., Knutson C. A., and Inglett G. E. (1987). Differential scanning calorimetry of raw and annealed starch isolated from normal and mutant maize genotypes. *Cereal Chem.* 64:187-190.

Kumar D., & Singh V. (2019). Bioethanol production from corn. In *Corn* (pp. 615-631). AACC International Press.

Lacerenza J. A., Martin J. M., Talbert L. E., Lanning S. P., & Giroux M. J. (2008). Relationship of Ethanol Yield to Agronomic and Seed Quality Characteristics of Small Grains. *Cereal Chemistry Journal*, 85(3), 322–328. doi:10.1094/cchem-85-3-0322

Landry J., Delhaye S. & Damerval C. (2004). Protein distribution pattern in flourey and vitreous endosperm of maize grain. *Cereal chemistry*, 81(2), 153-158.

Larkins B. A. (2019). Proteins of the Kernel. In *Corn* (pp. 319-336). AACC International Press.

Laude T. P. & Carena M. J. (2014). Diallel analysis among 16 maize populations adapted to the northern US Corn Belt for grain yield and grain quality traits. *Euphytica*, 200(1), 29-44.

Laurie C. C., Chasalow S. D., LeDeaux J. R., McCarroll R., Bush D., Hauge B., & Dudley J. W. (2004). The genetic architecture of response to long-term artificial selection for oil concentration in the maize kernel. *Genetics*, 168(4), 2141-2155.

Le S., Josse J., Husson F. (2008). FactoMineR: An R Package for Multivariate Analysis. *Journal of Statistical Software*, 25(1), 1-18. 10.18637/jss.v025.i01

Lemuz S. R.; Dien B. S.; Singh V.; McKinney J.; Tumbleson M. E. & Rausch K. D. (2009). Development of an Ethanol Yield Procedure for Dry-Grind Corn Processing. *Cereal Chem.* 86 (3): 355-360.

Leppäaho E., Ammad-ud-din M., and Kaski S. (2017) GFA: Exploratory Analysis of Multiple Data Sources with Group Factor Analysis. *Journal of Machine Learning Research*, 18(39):1-5.

Lewis N. G, Yamamoto E. (1990) Lignin: occurrence, biogenesis and biodegradation. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* 41, 455-496

Lewis M. F., Lorenzana R. E., Jung H. J., Bernardo R. (2010). Potential for simultaneous improvement of corn grain yield and stover quality for cellulosic ethanol. *Crop Science*. 50:516-523.

Li K., Wang H., Hu X., Ma F., Wu Y., Wang Q. & Huang C. (2017). Genetic and quantitative trait locus analysis of cell wall components and forage digestibility in the Zheng58× HD568 maize RIL population at anthesis stage. *Frontiers in plant science*, 8, 1472.

Li T. & Takkellapati S. (2018). The current and emerging sources of technical lignins and their applications. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, 12(5), 756-787.

Li C. & Song R. (2020). The regulation of zein biosynthesis in maize endosperm. *Theoretical and Applied Genetics*. doi:10.1007/s00122-019-03520-z

Limbikai G. T., Hiremath M. N. & Adiger S. (2014). Combining ability studies for grain yield and quality parameters in newly developed maize (*Zea mays* L.) inbred line crosses. *Electronic Journal of Plant Breeding*, 5(4), 771-774

Lorenz A. J., Anex R. P., Isci A., Coors J. G, de León N. & Weimer P.J., (2009-a). Forage quality and composition measurements as predictors of ethanol yield from maize (*Zea mays* L.) stover. *Biotechnology for Biofuels*. 2:5.

Lorenz A. J., Coors J. G., de León N., Wolfrum E. J., Hames B. R., Sluiter A .D. & Weimer P.J. (2009-b). Characterization, genetic variation, and combining ability of maize traits relevant to the production of cellulosic ethanol. *Crop Science*. 49:85–98.

Lorenz A. J., Coors J. G., Hansey C. N., Kaeppler S. M. & De Leon, N. (2010). Genetic analysis of cell wall traits relevant to cellulosic ethanol production in maize (*Zea mays* L.). *Crop Science*, 50(3), 842-852.

Lynd L. R., Laser M. S., Bransby D., Dale B. E., Davison B., Hamilton R. & Wyman C. E. (2008). How biotech can transform biofuels. *Nature biotechnology*, 26(2), 169-172.

Machida L., Derera J., Tongoona P. & MacRobert J. (2010). Combining ability and reciprocal cross effects of elite quality protein maize inbred lines in subtropical environments. *Crop science*, 50(5), 1708-1717.

MAGyP, Ministerio de Agricultura y Pesca. Datasets, Estimaciones agrícolas (2020). Disponible en: <https://datos.magyp.gob.ar/dataset?q=maiz> . Consultado 29 de abril de 2020.

Maresh N., Wali M. C., Gowda M. V. C., Motagi B. N. & Uppinal N. F. (2014). Genetic analysis of grain yield, starch, protein and oil content in single cross hybrids of maize. *Karnataka Journal of Agricultural Sciences*, 26(2).

Mantel N. (1967) The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Research*, 27, 209–220.

Mariotti J. A. & Collavino N. G. (2014). Los caracteres cuantitativos en la mejora genética de los cultivos (No. 631.523). *Orientación Gráfica*,.

Martínez G. A. (1983) *Diseño y Análisis de los Experimentos de Cruzas Dialélicas*. Centro de Estadística y Cálculo, Colegio de Postgraduados, Chapingo, México. 252 p.

Mc Donald P., Edwardas A., Greenhalgh D., & Morgan A. (1999). *Nutrición animal*, Editorial Acribia, Edición 5ta. Zaragoza-España, pag 22-25.

Mc Murray, J. (2008). *Química orgánica*. 7ma. Edición. Cengage Learning, Biomoléculas: Carbohidratos. pág 973-1007.

Méchin V., Argillier O., Menanteau V., Barriere Y., Mila I., Pollet B., & Lapierre C. (2000). Relationship of cell wall composition to in vitro cell wall digestibility of maize inbred line stems. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(5), 574-580.

Méchin V., Argillier O., Hébert Y., Guingo E., Moreau L., Charcosset A. & Barriere Y. (2001). Genetic analysis and QTL mapping of cell wall digestibility and lignification in silage maize. *Crop Science*, 41(3), 690-697.

Monteiro Salles-Filho S. L., Barbosa Cortez L. A., Ferreira Jardim da Silveira J. M., Trindade S. C. and Derengowski Fonseca M. G., (2016). *Global bioethanol: Evolution, risks, and uncertainties*. London, United Kingdom. Academic Press.

Morán D., (2015). Biorrefinerías de etanol celulósico a escala comercial. <https://biorrefineria.blogspot.com/2015/08/biorrefinerias-de-etanol-celulosico.html>

Moreau R. A., Johnston D. B. & Hicks K. B. (2005). The influence of moisture content and cooking on the screw pressing and prepressing of corn oil from corn germ. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 82(11), 851-854.

Naidu K., Singh V., Johnston D. B., Rausch K. D. & Tumbleson M. E. (2007). Effects of ground corn particle size on ethanol yield and thin stillage soluble solids. *Cereal Chemistry*, 84(1), 6-9.

Naik S. N., Goud V. V., Rout P. K. & Dalai A. K. (2010). Production of first and second generation biofuels: a comprehensive review. *Renewable and sustainable energy reviews*, 14(2), 578-597.

Narváez-González E. D., de Dios Figueroa-Cárdenas J., Taba S., Tostado E. C., Peniche R. Á. M., & Sánchez F. R. (2006). Relationships between the microstructure, physical features, and chemical composition of different maize accessions from Latin America. *Cereal chemistry*, 83(6), 595-604.

Niphadkar S., Bagade P. & Ahmed S. (2018). Bioethanol production: insight into past, present and future perspectives. *Biofuels*, 9(2), 229-238.

Olivares Merino, (2021). Hidrólisis y fermentación de materiales lignocelulósicos con *hansenula polymorpha*. Tesis Doctoral.

Olmos S., Delucchi C., Ravera M., Negri M. E., Mandolino C., Eyhéribide G. (2014). Genetic relatedness and population structure within the public Argentinean collection of maize inbred lines. *Maydica* Vol 59.1.

Olsen E. D. (1990). Métodos ópticos de análisis. Reverté. pp 459

Orhun G. E. (2013). "Maize for life." *Int J of Food Sci and Nutri Eng.* 3 (2): 13-16

Orhun G. E. (2018). Genetic control of oil and saturated fatty acids in maize (*Zea mays* L.) populations. *Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 35(3), 242-247.

Osborne T.B. (1897). Amount and properties of the proteins of the maize kernel. *J. Am. Chem. Soc.* 19, 525–532.

Osorno J. M. & Carena M. J. (2008). Creating groups of maize genetic diversity for grain quality: Implications for breeding. *Maydica*, 53(2), 131.

Pacheco A., Rodríguez F., Alvarado G., Vargas M.; López M., Crossa J., Burgueño J. (2016). STAD-R (Descriptive Statistics whit R for Windows) Version 1.0, <http://hdl.handle.net/11529/10201> International Maize and Wheat Improvement Center

Pacheco A., Vargas M., Alvarado G., Rodríguez F., López M., Crossa J., and Burgueño J. (2016) GEA-R (Genotype x Environment Analysis whit R for Windows.) Version 4.1. <http://hdl.handle.net/11529/10203> International Maize and Wheat Improvement Center.

Palacios-Rojas N. (2018). Calidad nutricional e industrial de Maíz: Laboratorio de Calidad Nutricional de Maíz "Evangeline Villegas" CDMX, México: CIMMYT

Paliwal R. L. (2001). El maíz en los trópicos: mejoramiento y producción (No. 28). Food & Agriculture Org.

Pamin K., Compton W. A., Walker C. E. & Alexander D. E. (1986). Genetic Variation and Selection Response for Oil Composition in Corn 1. *Crop science*, 26(2), 279-282.

Parker, R. & Ring S. G. (2001). Aspects of the physical chemistry of starch. *Journal of Cereal Science*, 34(1), 1-17.

Passarella V.S. & Savin R. (2003). Características físicoquímicas de los granos y sus usos principales En Satorre, E. H., Benech Arnold, R. L., Slafer, G. A., De la Fuente, E. B., Miralles, D. J., Otegui, M. E., & Savin, R. Producción de granos. Bases funcionales para su manejo (11-22). Editorial Facultad Agronomía

Paulsen M. R., Singh M., & Singh V. (2019). Measurement and maintenance of corn quality. In Corn (pp. 165-211). AACC International Press.

Percibaldi N. M, Borrás F. S., Robutti J. L., (1997). Método rápido de extracción y metilación para determinación de ácidos grasos en mejoramiento genético del aceite de maíz. Actas VI Congreso Nacional de Maíz. Capítulo IV:5-8.

Pereira R. C., Davide L. C., Pedrozo C. A., Carneiro N. P., Souza I. R. P., & Paiva E. (2008). Relationship between structural and biochemical characteristics and texture of corn grains. Embrapa Milho e Sorgo-Artigo em periódico indexado (ALICE).

Piquemal J., Chamayou S Nadaud I., Beckert M., Barriere Y., Mila I., Lapierre C., Rigau J., Puigdomenech P., Jauneau A. (2002) Down-regulation of caffeic acid O-methyltransferase in maize revisited using a transgenic approach Plant Physiol, 130 , pp. 1675–1685

Poneleit C. G. & Bauman L. F. (1970). Diallel Analyses of Fatty Acids in Corn (*Zea mays* L.) Oil 1. Crop science, 10(4), 338-341.

Pordesimo L. O., Hames B. R., Sokhansanj S. & Edens W. C. (2005). Variation in corn stover composition and energy content with crop maturity. Biomass and Bioenergy, 28(4), 366-374.

Prihar S. S.; Stewart B. A. (1990). Using upper-bound slope through origin to estimate genetic harvest index. Agron. J. 82, 1160–1165.

Pritchard J. K., Stephens M., and Donnelly P. (2000). Inference of population structure using multilocus genotype data. Genetics, 155(2), 945-959.

Rasmusson D. C. (1987). An Evaluation of Ideotype Breeding 1. Crop Science, 27(6), 1140-1146.

R Core Team (2018). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>

Reeves T. G., Thomas G. & Ramsay G. (2016). Save and grow in practice: maize, rice, wheat--a guide to sustainable cereal production. *UN Food and Agriculture Organization, Rome*.

RFA, Renewable Fuels Association (2020). RFA's Ethanol Industry Outlook is the go-to annual publication for information on America's ethanol industry. In Annual Industry Outlook. <https://ethanolrfa.org/publications/outlook/> (disponible Mayo 2020)



Robutti J. L. (1995) maize kernel hardness estimation in breeding by near-infrared transmission analysis. *Cereal Chemistry*. 72:632-636

Robutti J., Borrás F., Ferrer M., Percibaldi M. & Knutson C. A. (2000). Evaluation of quality factors in Argentine maize races. *Cereal chemistry*, 77(1), 24-26.

Robutti J. L., Calidad y usos del maíz. En Eyherabide, G. H. (2012). Bases para el manejo del cultivo de maíz (235-250). Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria Argentina.

Rodríguez F., Alvarado G., Pacheco A., Crossa J., Burgueño J. (2018). AGD-R (Analysis of Genetic Designs with R for Windows) Version 5.0". <http://hdl.handle.net/11529/10202> International Maize and Wheat Improvement Center.

SAGyP (1994). Resolución 1075. Norma XXVI. Metodologías. Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca de la Nación, Buenos Aires, Argentina

Salinas-Moreno Y. & Aguilar-Modesto L. (2010). Efecto de la dureza del grano de maíz (*Zea mays* L.) sobre el rendimiento y calidad de la tortilla. *Ing. Agríc. Biosist*, 5-11.

Savin R. and Sorlino D.M. (2003) Calidad de los granos y estimadores más comunes. En Satorre E. H., Benech Arnold R. L., Slafer G. A., De la Fuente E. B., Miralles D. J., Otegui M. E. & Savin R. Producción de granos. Bases funcionales para su manejo (27-36). Editorial Facultad Agronomía.

Sayre K. D.; Verhulst N.; Govaerts B. (2012). Manual de determinación de rendimiento. Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT), Mexico DF (Mexico)

Seetharaman K., Tziotis A., Borrás F., White P. J., Ferrer M. & Robutti J. (2001). Thermal and functional characterization of starch from Argentinean corn. *Cereal Chemistry*, 78(4), 379-386

Segura F., Echeverri R., Li A. C. P. & Mejía A. I. (2007). Descripción y discusión acerca de los métodos de análisis de fibra y del valor nutricional de forrajes y alimentos para animales. *Vitae*, 14(1), 72-81.

Sharma S. & Carena M. J. (2016). Grain quality in Maize (*Zea mays* L.): breeding implications for short-season drought environments. *Euphytica*, 212(2), 247-260.

Shukla R. & Cheryan M. (2001). Zein: the industrial protein from corn. *Industrial crops and products*, 13(3), 171-192.

Sievert D., and Wursch P. 1993. Amylose chain association based on differential scanning calorimetry. *J. Food Sci.* 58:1332-1334, 1345.

Singh D. (1973). Diallel analysis for combining ability over several environments-II. Indian Journal of Genetics and Plant Breeding (The), 33(3), 469-481

Singh V. (2012). Effect of corn quality on bioethanol production. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 1(4), 353–355. doi:10.1016/j.bcab.2012.06.001

Sokal R. R. & Rohlf F. J. (1995). Biometry: the principles and practice of statistics in biological research 3rd ed Freeman. New York, NY.

Song T. M. & Chen S. J. (2004). Long term selection for oil concentration in five maize populations [Zea mays L.; China]. Maydica (Italy).

Sprague G. F. & Tatum L. A. (1942). General vs. specific combining ability in single crosses of corn 1. Agronomy Journal, 34(10)

Tao L. & Aden A. (2011). The Economics of Current and Future Biofuels. In Biofuels (pp. 37-69). Springer, New York, NY.

Taylor S. H., Hulme S. P., Rees M., Ripley B. S., Woodward F., and Osborne C. P. (2010). Ecophysiological traits in C3 and C4 grasses: A phylogenetically controlled screening experiment. New Phytol. 185:780–791. doi:10.1111/j.1469-8137.2009.03102.x

Torney F., Moeller L., Scarpa A., and Wang K., (2007). Genetic engineering approaches to improve bioethanol production from maize. Current opinion in biotechnology, 18(3), 193-199

Torres A. F., Visser R. G., & Trindade L. M. (2015). Bioethanol from maize cell walls: genes, molecular tools, and breeding prospects. Gcb Bioenergy, 7(4), 591-607

Totis de Zeljkovich L. E. Requerimientos agroclimáticos del cultivo de maíz. En Eyherávide G. H. (2012). Bases para el manejo del cultivo de maíz (7-24). Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria Argentina.

Trethowan R. M. (2014). Defining a genetic ideotype for crop improvement. In Crop Breeding (pp. 1-20). Humana Press, New York, NY.

Truntzler M., Barriere Y., Sawkins M. C., Lespinasse D., Betran J. and Charcosset A. (2010). Meta-analysis of QTL involved in silage quality of maize and comparison with the position of candidate genes. Theor. Appl. Genet. 121, 1465–1482. doi: 10.1007/s00122-010-1402-x

Naciones Unidas - United Nations Framework Convention on Climate Change, (2016). La convención del cambio climático (en línea). Disponible en: <https://unfccc.int/process#:a0659cbd-3b30-4c05-a4f9-268f16e5dd6b> Consultado: Mayo de 2019.

Van Soest P. & Wine R. H. (1967). Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. IV. Determination of plant cell-wall constituents. *Journal of the association of official analytical chemists*, 50(1), 50-55.

Virtanen S., Klami A., Khan S., and Kaski S. (2012). Bayesian Group Factor Analysis. In *Artificial Intelligence and Statistics* (pp. 1269-1277)

Klami A., Virtanen S., Leppäaho E., & Kaski S. (2014). Group factor analysis. *IEEE transactions on neural networks and learning systems*, 26(9), 2136-2147.

Walker G. M. (1998). *En Yeast Physiology and Biotechnology*. Wiley. New York

Wassom J. J., Mikkelineni V., Bohn M. O. & Rocheford T. R. (2008). QTL for fatty acid composition of maize kernel oil in Illinois high oil× B73 backcross-derived lines. *Crop science*, 48(1), 69-78.

Watson S.A., (1987). Structure and composition. In: *Corn: chemistry and technology* (Watson S.A., Ramstad P.E., eds). Am Assoc Cereal Chem, Inc St Paul, MN, USA. pp. 53-82.

Watson, S. A. (2003). Description, development, structure and composition of the corn kernel. *Corn: chemistry and technology* pp 69-106.

Weijde T. V. D., Alvim Kamei C. L., Torres A. F., Vermerris W., Dolstra O., Visser R. G. F. & Trindade L. M. (2013). The potential of C4 grasses for cellulosic biofuel production. *Frontiers in Plant Science*, 4, 107.

Weijde, T. V. D., Alvim Kamei, C. L., Torres, A. F., Vermerris, W., Dolstra, O., Visser, R. G. F., & Trindade, L. M. (2013). The potential of C4 grasses for cellulosic biofuel production. *Frontiers in Plant Science*, 4, 107.

Werle A. J. K., Ferreira F. R. A., Pinto R. J. B., Mangolin C. A., Scapim C. A. & Gonçalves L. S. A. (2014). Diallel analysis of maize inbred lines for grain yield, oil and protein content. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 14(1), 23-28.

White P., Abbas I., Pollak L. & Johnson L.. (1990). Intra-and interpopulational variability of thermal properties of maize starch. *Cereal chemistry*, 67(1), 70-73.

White P. J. (2001). Properties of corn starch. *Specialty corns*, 2, 34-62.

Wickham H (2016). *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*. Springer-Verlag New York. ISBN 978-3-319-24277-4, <https://ggplot2.tidyverse.org>.

Wilson C. M. (1987). Protein of the kernel. In: *Corn: chemistry and technology* (Watson S.A., Ramstad P.E., eds). Am Assoc Cereal Chem, Inc St Paul, MN, USA. pp. 273-310.

WMO - World Meteorological Organization. (2017). statement on the state of the global climate in 2016. World Meteorological Organization (WMO). [http://library.wmo.int/opac/doc\\_num.php?explnum\\_id=3414](http://library.wmo.int/opac/doc_num.php?explnum_id=3414).

Wolf D. P., Coors J. G., Albrecht K. A., Undersander D. J., & Carter P. R. (1993). Forage quality of maize genotypes selected for extreme fiber concentrations. *Crop science*, 33(6), 1353-1359.

Yan W., Hunt L. A., Sheng Q., & Szlavnics Z. (2000). Cultivar evaluation and mega-environment investigation based on the GGE biplot. *Crop Science*, 40(3), 597-605.

Yangcheng H., Jiang H., Blanco M., & Jane J. L. (2013). Characterization of normal and waxy corn starch for bioethanol production. *Journal of agricultural and food chemistry*, 61(2), 379-386

Zhang J., Lu X., Song X., Yan J. and Song T. (2008). Mapping quantitative trait loci for oil, starch, and protein concentrations in grain with high-oil maize by SSR markers. *Euphytica* 162: 335–344

Zhang H., Gao R. & Dong S. (2011). Anatomical and physiological characteristics associated with corn endosperm texture. *Agronomy journal*, 103(4), 1258-1264.

Zhang H., Jin T., Huang Y., Chen J., Zhu L., Zhao Y. & Guo J. (2015). Identification of quantitative trait loci underlying the protein, oil and starch contents of maize in multiple environments. *Euphytica*, 205(1), 169-183.

Zhang Z., Zheng X., Yang J., Messing J., & Wu Y. (2016). Maize endosperm-specific transcription factors O2 and PBF network the regulation of protein and starch synthesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 113(39), 10842-10847.

Zhao Y., Damgaard A. & Christensen T. H. (2018). Bioethanol from corn stover—a review and technical assessment of alternative biotechnologies. *Progress in Energy and Combustion Science*, 67, 275-291.

Zheng P., Allen W. B., Roesler K., Williams M. E., Zhang S., Li J. & Bhattaramakki D. (2008). A phenylalanine in DGAT is a key determinant of oil content and composition in maize. *Nature genetics*, 40(3), 367.

## Apéndice

**Tabla A.1.** BLUPS para concentración de almidón, amilosa y propiedades térmicas de almidón en relación al rendimiento de etanol del grano de diez híbridos F1 evaluados en cuatro ambientes del norte de la provincia de Buenos Aires, distribuidos en dos campañas agrícolas. Graficadas en Figura 2.1

| Híbrido | CAL  | REGN | CAM  | $T_{0G}$ | $T_{PG}$ | $PHI_G$ | $R_R$ |
|---------|------|------|------|----------|----------|---------|-------|
| H1      | 69.9 | 468  | 24.4 | 68.4     | 72.8     | 2.7     | 18.6  |
| H2      | 71.6 | 481  | 23.6 | 68.7     | 73.1     | 3.1     | 20.2  |
| H3      | 70.8 | 472  | 23.6 | 70.1     | 74.5     | 3.2     | 19.3  |
| H4      | 69.8 | 472  | 23.4 | 69.1     | 73.5     | 3.0     | 18.2  |
| H5      | 67.1 | 455  | 23.7 | 68.3     | 73.1     | 2.7     | 18.5  |
| H6      | 68.7 | 470  | 23.0 | 68.8     | 73.2     | 2.9     | 20.7  |
| H7      | 67.2 | 455  | 22.6 | 69.1     | 74.5     | 2.9     | 19.6  |
| H8      | 67.3 | 457  | 23.5 | 69.1     | 73.4     | 3.0     | 19.9  |
| H9      | 69.7 | 473  | 23.0 | 69.7     | 74.0     | 3.2     | 20.4  |
| H10     | 69.3 | 471  | 23.6 | 68.6     | 73.1     | 2.9     | 19.3  |

REGN: Rendimiento de etanol de grano mediante NIRS en  $\text{I.Mg}^{-1}$ ; CAL: Concentración de almidón en  $\text{g.100.g}^{-1}$ ; CAM: Concentración de amilosa en  $\text{g.100.g}^{-1}$ ;  $T_{0G}$ : temperatura de inicio de gelatinización en  $^{\circ}\text{C}$ ;  $T_{PG}$ : temperatura del pico de gelatinización en  $^{\circ}\text{C}$ ;  $PHIG$  índice de altura de pico de gelatinización;  $RR$ : rango de retrogradación en  $^{\circ}\text{C}$ . Los híbridos (H) corresponden a: 1: LP29 x LP661; 2: LP29 x LP2542; 3: LP923 x LP29; 4: LP214 x LP29; 5: LP214 x LP661; 6: LP214 x LP2542; 7: LP214 x LP923; 8: LP923 x LP661; 9: LP923 x LP2542; 10: LP661 x LP2542.