



*FACULTADES DE CIENCIAS AGRARIAS E INGENIERÍA  
UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOMAS DE ZAMORA*

**EVOLUCIÓN DE LA APTITUD FORRAJERA EN  
HÍBRIDOS DE MAÍZ.  
SU RELACIÓN CON LA PRODUCCIÓN DE ETANOL**

Tesis para optar al grado de Magíster en Producción  
e Industrialización de Cereales y Oleaginosas

**Ing. Agr. Jonatan Andrés Manosalva**

Director: Dr. Luis Máximo Bertoia  
Co-Directora: Dra. Mónica Beatriz Aulicino

## Índice General

|  |    |
|--|----|
| Índice General .....   | 2  |
| Índice de tablas .....   | 4  |
| Índice de figuras .....  | 6  |
| Abreviaturas.....  | 7  |
| 1. INTRODUCCIÓN.....   | 8  |
| 2. OBJETIVOS .....   | 18 |
| 3. HIPÓTESIS .....   | 18 |
| 4. MATERIALES Y MÉTODOS .....  | 19 |
| 4.1 Obtención de Datos .....   | 19 |
| 4.1.1 Confección matriz de datos .....   | 19 |
| 4.2 Ensayos a campo.....   | 19 |
| 4.2.1 Ensayos en parcelas experimentales .....                                       | 20 |
| 4.2.2 Ensayos en lotes de producción.....  | 22 |
| 4.3 Variables estudiadas.....  | 26 |
| 4.4 Obtención y procesamiento de muestras .....                                      | 27 |
| 4.4.1 Análisis de Laboratorio húmedo .....   | 27 |
| 4.4.2 Estimación del rendimiento potencial de etanol .....                           | 27 |
| 4.5 Análisis estadístico.....  | 28 |
| 4.5.1 Análisis univariado .....  | 28 |
| 4.5.2 Análisis multivariado .....  | 29 |
| 5. RESULTADOS .....  | 31 |
| 5.1 Análisis descriptivo.....  | 31 |
| 5.2 ANVAS y Contrastes.....  | 33 |
| 5.3 Regresiones .....  | 37 |
| 5.4 Análisis Multivariado .....  | 41 |
| 5.4.1 Agrupamiento de años – parcelas experimentales .....                           | 41 |
| 5.4.2 Agrupamiento de años - lotes.....  | 43 |
| 5.4.3 Agrupamiento de ambientes – lotes .....  | 44 |
| 5.5 Correlaciones .....  | 47 |
| 5.5.1 Periodo 1999 – 2014 .....  | 47 |
| 5.5.2 Periodo 2009 - 2014 .....  | 48 |
| 6. DISCUSIÓN.....  | 50 |
| 6.1 Variabilidad de las variables de rendimiento y calidad a través de los años..... | 50 |
| 6.1.1 Rendimiento de materia seca .....  | 50 |
| 6.1.2 Digestibilidad in vitro .....  | 51 |
| 6.1.3 Fibra detergente neutra .....  | 52 |

|   |    |
|---|----|
| 6.1.4 Fibra detergente ácido .....  | 53 |
| 6.1.5 Lignina detergente ácido .....                                      | 53 |
| 6.1.6 Estimación del rendimiento de etanol.....                           | 53 |
| 6.2 Comportamiento de las variables durante el periodo de estudio.....    | 55 |
| 6.2.1 Rendimiento de materia seca .....                                   | 55 |
| 6.2.2 Digestibilidad in vitro .....                                       | 56 |
| 6.2.3 Fibra detergente neutra .....                                       | 56 |
| 6.2.4 Fibra detergente ácido.....   | 57 |
| 6.2.5 Lignina detergente ácido .....                                      | 57 |
| 6.2.6 Estimación del rendimiento de etanol.....                           | 58 |
| 6.3 Análisis Multivariado .....   | 58 |
| 6.4 Asociación entre variables de rendimiento, calidad y climáticas ..... | 58 |
| 6.4.1 Asociación entre variables .....                                    | 58 |
| 6.4.2 Asociación con precipitaciones.....                                 | 60 |
| 6.4.3 Asociación con temperaturas .....                                   | 61 |
| 7. CONCLUSIONES.....  | 63 |
| 8. INVESTIGACIONES FUTURAS .....  | 64 |
| 9. BIBLIOGRAFÍA.....  | 65 |
| ANEXO .....   | 72 |

## Índice de tablas

|  |    |
|--|----|
| <b>Tabla 1:</b> Ensayos en parcelas experimentales .....   | 21 |
| <b>Tabla 2:</b> Ensayos en lotes de producción.....  | 22 |
| <b>Tabla 3:</b> Medias, desvío estándar (DE), coeficiente de variación porcentual (CV), mínimo (Mín) y máximo (Máx) de las variables de calidad (digestibilidad <i>in vitro</i> , DIV (%); fibra detergente neutro, FDN (%); fibra detergente ácido, FDA (%) y lignina detergente ácido, LDA (%)) y rendimiento (rendimiento de materia seca, RMS (kg ha <sup>-1</sup> ) y rendimiento de etanol, RE (l ha <sup>-1</sup> ) en ensayos de parcelas experimentales para el período 1999 a 2014. .... | 31 |
| <b>Tabla 4:</b> Medias, desvío estándar (DE), coeficiente de variación porcentual (CV), mínimo (Mín) y máximo (Máx) de las variables de calidad (digestibilidad <i>in vitro</i> , DIV (%); fibra detergente neutro, FDN (%); fibra detergente ácido, FDA (%) y lignina detergente ácido, LDA (%)) y rendimiento (rendimiento de materia seca, RMS (kg ha <sup>-1</sup> ) y rendimiento de etanol, RE (l ha <sup>-1</sup> ) en ensayos de lotes de producción para el período 1999 a 2014. ....     | 32 |
| <b>Tabla 5:</b> Medias, desvío estándar y contrastes usando DGC por año de variables de rendimiento (materia seca, RMS (kg ha <sup>-1</sup> ) y etanol, RE (l ha <sup>-1</sup> ) y calidad (digestibilidad <i>in vitro</i> , DIV (%); fibra detergente neutro, FDN (%); fibra detergente ácido, FDA (%) y lignina detergente ácido, LDA (%)) en parcelas experimentales durante el periodo 1999 – 2014. ....   | 33 |
| <b>Tabla 6:</b> Medias, desvío estándar y contrastes usando DGC por año de variables de rendimiento (materia seca, RMS (kg ha <sup>-1</sup> ) y etanol, RE (l ha <sup>-1</sup> ) y calidad (digestibilidad <i>in vitro</i> , DIV (%); fibra detergente neutro, FDN (%); fibra detergente ácido, FDA (%) y lignina detergente ácido, LDA (%)) en lotes de producción durante el periodo 1999 – 2014. ....   | 35 |
| <b>Tabla 7:</b> Comparaciones entre medias ( $\pm$ error estándar) de los clusters de la figura 6 para las variables: rendimiento de materia seca (RMS) (kg ha <sup>-1</sup> ), digestibilidad <i>in vitro</i> (DIV) (%), fibra detergente neutro (FDN) (%), fibra detergente ácido (FDA) (%), lignina detergente ácido (LDA) (%) y rendimiento de etanol (RE) (l ha <sup>-1</sup> ). LSD ( $p < 0,05$ ). ....   | 42 |
| <b>Tabla 8:</b> Comparaciones entre medias ( $\pm$ error estándar) de los clusters de la figura 7 para las variables: rendimiento de materia seca (RMS) (kg ha <sup>-1</sup> ), digestibilidad <i>in vitro</i> (DIV) (%), fibra detergente neutro (FDN) (%), fibra detergente ácido (FDA) (%), lignina detergente ácido (LDA) (%) y rendimiento de etanol (RE) (l ha <sup>-1</sup> ). LSD ( $p < 0,05$ ). ....   | 44 |
| <b>Tabla 9:</b> Comparaciones entre medias ( $\pm$ error estándar) de los clusters de la figura 8 para las variables: rendimiento de materia seca (RMS) (kg ha <sup>-1</sup> ), digestibilidad <i>in vitro</i> (DIV) (%), fibra detergente neutro (FDN) (%), fibra detergente ácido (FDA) (%), lignina detergente ácido (LDA) (%) y rendimiento de etanol (RE) (l ha <sup>-1</sup> ). LSD ( $p < 0,05$ ). ....   | 46 |
| <b>Tabla 10:</b> Correlaciones entre variables de calidad (digestibilidad <i>in vitro</i> , DIV; fibra detergente neutro, FDN; fibra detergente ácido, FDA y lignina detergente ácido, LDA) y rendimiento (materia seca, RMS y etanol, RE) para el período 1999 – 2014. ....   | 47 |

**Tabla 11:** Correlaciones entre variables de calidad (digestibilidad *in vitro*, DIV; fibra detergente neutro, FDN; fibra detergente ácido, FDA y lignina detergente ácido, LDA) y rendimiento (materia seca, RMS y etanol, RE) con variables climáticas: precipitación (PP), temperatura mínima (T mín), media (T med) y máxima (T máx), en datos de parcelas y lotes, para el período 1999 – 2014. .... 47

**Tabla 12:** Correlaciones entre variables de calidad (digestibilidad *in vitro*, DIV; fibra detergente neutro, FDN; fibra detergente ácido, FDA y lignina detergente ácido, LDA) y rendimiento (materia seca, RMS y etanol, RE) con variables climáticas: precipitación (PP), temperatura mínima (T mín), media (T med) y máxima (T máx), en datos de parcelas, para el período 2009 – 2014. ... 48

**Tabla 13:** Correlaciones entre variables de calidad (digestibilidad *in vitro*, DIV; fibra detergente neutro, FDN; fibra detergente ácido, FDA y lignina detergente ácido, LDA) y rendimiento (materia seca, RMS y etanol, RE) con variables climáticas: precipitación (PP), temperatura mínima (T mín), media (T med) y máxima (T máx), en datos de parcelas y lotes, para el período 2009 – 2014. .... 49

## Índice de figuras

|  |    |
|--|----|
| <b>Figura 1:</b> Superficie sembrada de maíz en Argentina desde 1999 a 2015. ....  | 9  |
| <b>Figura 2:</b> Composición y calidad de la planta de maíz. ....  | 10 |
| <b>Figura 3:</b> Localidades de ensayos de parcelas experimentales.....  | 22 |
| <b>Figura 4:</b> Localidades de ensayos de lotes de producción. ....   | 26 |
| <b>Figura 5:</b> Regresiones ajustando modelos mixtos para: a-rendimiento de materia seca (RMS) (kg ha <sup>-1</sup> ), b-digestibilidad <i>in vitro</i> (DIV) (%), c-fibra detergente neutro (FDN) (%), d-fibra detergente ácido (FDA) (%), e-lignina detergente ácido (LDA) (%) y f-rendimiento de etanol (RE) (l ha <sup>-1</sup> ), por año, en parcelas experimentales (rombos celestes) y lotes de producción (círculos naranjas), para el período 1999 – 2014. .... | 38 |
| <b>Figura 6:</b> Regresiones ajustando modelos mixtos para: a-rendimiento de materia seca (RMS) (kg ha <sup>-1</sup> ), b-digestibilidad <i>in vitro</i> (DIV) (%), c-fibra detergente neutro (FDN) (%), d-fibra detergente ácido (FDA) (%), e-lignina detergente ácido (LDA) (%) y f-rendimiento de etanol (RE) (l ha <sup>-1</sup> ), por año, en parcelas experimentales (rombos celestes) y lotes de producción (círculos naranjas), en el período 2009 – 2014.....    | 40 |
| <b>Figura 7:</b> Fenograma clasificando los años para datos de parcelas experimentales utilizando la variable de rendimiento (materia seca, RMS) y las de calidad (digestibilidad <i>in vitro</i> , DIV; fibra detergente neutro, FDN; fibra detergente ácido, FDA y lignina detergente ácido, LDA) construido con distancia euclídea y método de agrupamiento distancia mínima de Ward. CCC: 0,69. ....   | 41 |
| <b>Figura 8:</b> Fenograma clasificando los años para datos de lotes de producción utilizando la variable de rendimiento (materia seca, RMS) y las de calidad (digestibilidad <i>in vitro</i> , DIV; fibra detergente neutro, FDN; fibra detergente ácido, FDA y lignina detergente ácido, LDA) construido con manhattan y método de agrupamiento distancia mínima de Ward. CCC: 0,63.....   | 43 |
| <b>Figura 9:</b> Fenograma clasificando ambientes para datos de lotes de producción utilizando la variable de rendimiento (materia seca, RMS) y las de calidad (digestibilidad <i>in vitro</i> , DIV; fibra detergente neutro, FDN; fibra detergente ácido, FDA y lignina detergente ácido, LDA) construido con manhattan y método de agrupamiento distancia mínima de Ward. CCC: 0,69.....  | 45 |

## Abreviaturas

% porcentaje

°C Grados Centígrados.

ANVA Análisis de Varianza.

C+H Caña + hojas

cm Centímetro.

CV coeficiente de variación porcentual.

DE Desvío estándar.

DFDN Digestibilidad de la fibra detergente neutro.

DIV Digestibilidad *in vitro*.

E Espiga.

FDA Fibra detergente ácido.

FDN Fibra detergente neutro.

g gramo.

Ha Hectárea.

Kg Kilogramo.

l Litro.

LDA Lignina detergente ácido.

m Metro.

Máx máximo.

Mg Megagramo.

Mín Mínimo

mm Milímetro.

NIRS Near infrared reflectance spectroscopy.

O Oeste.

p p value.

PC Planta completa

R1 Floración femenina (Ritchie y Hanway, 1982)

R3 Grano lechoso (Ritchie y Hanway, 1982)

R6 Madurez fisiológica (Ritchie y Hanway, 1982)

RE Rendimiento potencial de etanol

RMS Rendimiento de materia seca.

S Sur.

vs Versus.

## 1. INTRODUCCIÓN

Mediante el avance tecnológico, referido a máquinas autopropulsadas cortadoras y picadoras de forrajes en Argentina, se generó una tecnificación especializada muy importante en el ensilaje mediante el uso de bolsas, en cambio, el progreso genético de híbridos de maíz fue menor o más lento en comparación a este. En general, los híbridos de maíz han sido seleccionados por características agronómicas que contribuyen a maximizar el rendimiento en grano, como la resistencia de la caña al quebrado, resistencia a enfermedades y estrés climático, pero se ha trabajado poco para aumentar el rendimiento y la calidad de la planta entera para ser utilizada como alimento para los animales (Barrière, *et al.*, 2003). Tradicionalmente se consideró que el mejor híbrido para grano también lo era para ensilaje, concepto actualmente relativizado, ya que un elevado rendimiento de grano no siempre está asociado a un elevado rendimiento de forraje (Fairey, 1980; Allen *et al.*, 1991; Barrière, *et al.*, 2003), ni tampoco con la calidad de la fracción vegetativa (Vattikonda & Hunter, 1983).

Según algunos autores, el mejoramiento del maíz para forraje es aún altamente dependiente del germoplasma proveniente del mejoramiento de híbridos graníferos (Barriere *et al.* 2005). Por lo tanto, es de esperar que tengan bajo o mediocre valores de digestibilidad y energía. Sin embargo, Barriere *et al.* (2005), observaron en una amplia revisión de materiales europeos, que algunos híbridos modernos de alto valor agronómico tenían valores de digestibilidad y energía semejante a híbridos anteriores de la década de 1980, lo que indicaría la existencia de amplia variabilidad genética para el aumento de dichas variables en el futuro.

En Argentina, en los últimos años se incrementó la superficie sembrada de maíz, actualmente alcanza los 6,9 millones de hectáreas (Ministerio de Agroindustria), aumentando exponencialmente a partir de la campaña 2011/12, siendo el doble a los años anteriores comprendidos entre 1999 a 2010 de 3 millones de hectáreas (Figura 1). Con un menor porcentaje, la superficie destinada a la producción de forraje con destino a ensilar también experimentó un crecimiento. Como consecuencia, las empresas semilleras tomaron conciencia de la existencia de un mercado diferencial, y algunas de ellas comenzaron a dividir la producción de semilla con destino a híbridos para grano y para forraje.

Actualmente se siembran 1,7 millones de hectáreas con destino a ensilar, de las cuales el cultivo de maíz representa el 68%, con una producción que en promedio ronda entre 37 a 40 toneladas de materia verde por hectárea (Cámara Argentina de Contratistas Forrajeros, CACF, 2015).





**Figura 1:** Superficie sembrada de maíz en Argentina desde 1999 a 2015.

Fuente: <https://datos.magyp.gob.ar/reportes.php?reporte=Estimaciones>

El destino del total de la producción de silaje en el país se divide en 38,6 % para la producción de tambo y 61,4 % para la producción de carne (CACF, 2015). El 85 % de los tambos utiliza silaje y sólo un 10 % en los establecimientos para carne (Bertoia, com. pers., 2016), o sea que, si la demanda de carne aumentara, y el desarrollo de feed lot creciera, se incrementaría abruptamente la demanda de maíz para silaje.

Durante los últimos 20 años se ha producido una reducción importante en el número de tambos, pero sin registrar variaciones importantes en la producción de leche, lo cual significa que los tambos que desaparecieron fueron “absorbidos” por establecimientos de mayor magnitud. Es decir que por tambo se estaría produciendo un mayor volumen. Al transformarse de empresas familiares a grandes establecimientos, se han especializado los recursos humanos de cada área, como por ejemplo la contratación de especialistas tales como nutricionistas, los cuales ejercen una presión de mercado seleccionando maíces que se adapten al consumo de planta entera. Por lo tanto, alcanzar altas producciones demandan mayor calidad de fibra, mayor o menor contenido de grano, mayor volumen de materia seca, entre otras características, para formular una ración adecuada acorde a los altos requerimientos nutricionales de vacunos, para la producción de leche y/o de carne.

Se ha demostrado que la elección del híbrido de maíz tiene un efecto significativo en el volumen potencial de leche producido en un área, cuando el forraje de planta entera es usado para alimentar al ganado en forma de silaje (Lauer *et al.*, 2001; Frey *et al.*, 2004).

| Componente de la planta | Aporte al rendimiento (%) | Contenido de materia seca (%) | Digestibilidad (%) |
|-------------------------|---------------------------|-------------------------------|--------------------|
| ESPIGA                  | 49,8                      | 40,4                          | 79,8               |
| CAÑA + HOJAS            | 50,2                      | 25,3                          | 57,1               |
| PLANTA COMPLETA         | 100                       | 32,5                          | 69,2               |

**Figura 2:** Composición y calidad de la planta de maíz. (Bertoia L., Laboratorio NIRS, com. pers., 2016).

Todas estas causas expuestas con anterioridad han llevado a los programas de mejoramiento a dedicarse a seleccionar maíz como cultivo para silaje y al lanzamiento de nuevos híbridos específicos. Se focalizaron en aumentar la concentración de nutrientes por kilogramo de materia seca, principalmente aumentando la digestibilidad de la fibra y buscando mejorar otros parámetros nutricionales del ensilaje de maíz para la producción animal. Ejemplo de ello fue la obtención de híbridos “*bmr*” (conteniendo el gen de nervadura marrón, *brown-midrib*). La mutación obtenida confiere una lesión en la vía de síntesis de la lignina promoviendo una variación en su composición química, una disminución del contenido de lignina y, en consecuencia, un aumento de la digestibilidad de la pared celular (Jung & Allen, 1995). La alimentación de rumiantes con estos híbridos reportó resultados de un mayor consumo, mayor producción de leche y aumento de la digestibilidad de la fibra detergente neutro (DFDN) (Oba & Allen, 1999; Barrière *et al.*, 2003).

Otra vía por la cual se intentó mejorar la calidad de los ensilajes de maíz fue a través de un incremento en los componentes más digeribles de la fracción vegetativa. Así, los híbridos denominados “leafy”, mutantes de hoja (gen *Lfy1*), presentan mayor cantidad de hojas (al menos cuatro) por sobre la inserción de la espiga que un híbrido convencional, de esta manera se intentó aumentar la calidad a través de una mayor relación hoja: tallo.

También se han seleccionado fenotípicamente híbridos a favor de una alta digestibilidad de la fibra, a partir de líneas de maíz obtenidas por selección a favor de una mayor proporción de espiga y digestibilidad de la pared celular (Barrière *et al.*, 2003; Benefield *et al.*, 2006).

Actualmente en el país ya se han establecido y segregado las empresas semilleras dedicadas a la producción de híbridos de maíz según su destino: ensilaje, grano u otros.

### **Características químicas de los forrajes**

La pared celular consiste en una mezcla compleja de polisacáridos y otros polímeros, ensamblados en una organización entramada y equilibrada por medio de enlaces covalentes y no covalentes, entrelazados formando una macromolécula (Chesson & Forsberg, 1988). Los principales polisacáridos de la pared celular son la celulosa y la hemicelulosa (Jung & Allen, 1995). La lignina es uno de los componentes más importantes de las células vegetales y, después de la celulosa, el polímero vegetal más abundante (Boudet & Grima-Pettenati, 1996).

Las relaciones entre la química, la anatomía y degradabilidad de la pared celular no están aún totalmente esclarecidas, pero la organización y estructura de la pared celular, y los patrones de tejidos lignificados, sin duda están involucrados en la digestibilidad del forraje de maíz y la ingesta. (Barrière *et al.* 2005 a).

La pared celular lignificada está compuesta por microfibrillas de celulosa y una matriz amorfa que consiste en hemicelulosa, principalmente glucuronoarabinoxylanos (pocas pectinas) y compuestos fenólicos. Estos últimos comprenden ligninas y paredes celulares unidas por p-hidroxicinámico, derivados de ácidos p-cumárico y ferúlico, los cuales son conocidos en la pared celular por tener un efecto negativo en la digestibilidad (Barrière *et al.* 2005 a).

En general, la cantidad de lignina y la formación de uniones entre esta y los carbohidratos estructurales son los principales factores que controlan la digestibilidad de la pared celular (Reeves, 1987; Jung; Ralph, 1990 citado por Hatfield, 1993; Chesson, 1993).

Jung & Vogel 1986, observaron una relación curvilínea entre la concentración de lignina y la digestibilidad, donde los efectos inhibitorios de la lignina sobre la digestibilidad son mayores a baja concentración de lignina en el forraje inmaduro, pero cuando el forraje madura la lignina ejerce una influencia cada vez menor sobre la digestión, a pesar de que la concentración de lignina aumenta rápidamente. Este cambio en la influencia de la lignina sobre la digestibilidad que ocurre a medida que el forraje madura es la consecuencia de cambios que sufre la composición de la lignina (Jung *et al.*, 1983; Burritt *et al.*, 1984).

La lignina formada durante los estadios tempranos (rica en guaiacil) es más condensada e inhibitoria de la hidrólisis de los polisacáridos de la pared celular que la formada más tardíamente (Jung & Deetz, 1993; Terashima *et al.*, 1993).

La lignina, tanto en cantidad como en su composición, está indicada como el principal factor limitante en la degradación ruminal de la FDN (Van Soest, 1994). Así, aquellos híbridos de maíz que tengan menor contenido de lignina y/o que su matriz presente una organización con hemicelulosa y celulosa tal que permita una mayor acción microbiana, tendrán mayor digestibilidad que híbridos de maíz tradicionales (Hatfield, 1993; Jung & Allen, 1995). Ejemplo de esto son los maíces bmr y los híbridos obtenidos por selección fenotípica recurrente a favor de una alta digestibilidad de la fibra (Camarasa, 2012).

### **Relación entre calidad forrajera y producción de etanol**

Existe una estrecha relación entre la calidad de maíz forrajero y la producción de etanol. Desde el punto de vista biológico, la pared celular (fibra) es descompuesta en el rumen, órgano de gran volumen del sistema digestivo de los rumiantes. Diversos microorganismos (bacterias, protozoarios y hongos) degradan la fibra mediante un proceso de fermentación, el cual ocurre exclusivamente en este segmento del sistema digestivo. Por tal motivo, es indispensable que la fibra posea alta calidad, es decir, sea muy digestible. Para poder digerir la pared celular, los organismos del rumen experimentan reacciones similares a los procedimientos de la sacarificación y fermentación simultánea (SSF) que producen los microorganismos para obtener bioetanol (Lorenz *et al.*, 2009 a).

Este proceso simultáneo llamado SSF consiste en una conversión bioquímica de la biomasa celulósica en etanol, donde la hidrólisis enzimática del complejo de polisacáridos de la pared celular, al liberar monosacáridos, es combinada con la siguiente etapa de fermentación de esos azúcares (Lorenz *et al.*, 2009 b).

Microorganismos fermentativos han sido modificados para fermentar, tanto pentosas como hexosas, aumentando la cantidad de etanol que puede ser producida cuando se compara con la fermentación natural de los microorganismos (Yanase *et al.*, 2007).

Lorenz *et al.* (2009 b), encontraron que la variación en el rendimiento de etanol (medido en ensayo SSF) fue impulsada más por la convertibilidad de los azúcares en bioetanol que por el contenido de azúcares. La convertibilidad estaría fuertemente correlacionada con los métodos de calidad del forraje, tales como: la digestibilidad ruminal *in vitro* de la materia seca, la calidad de la fibra (DFDN) y el contenido de lignina. Por otro lado, Weimer *et al.* (2005), demostraron que las mediciones de producción de gas obtenidas a partir de una fermentación ruminal *in vitro* también se correlacionaron con las mediciones de etanol SSF.

Estos métodos de calidad de forraje se utilizan comúnmente en investigación sobre nutrición de rumiantes, y son de fácil realización y calibración mediante NIRS (Grabber *et al.*, 2008; Jackson *et al.*, 2008), por lo tanto, pueden ser adecuados para determinar la calidad de la materia prima con destino a producción de etanol.

Se entiende por convertibilidad al porcentaje de glucano y otros carbohidratos transformados en etanol, utilizando esquemas de pretratamiento e hidrólisis.

Lorenz *et al.* (2009 a), proponen analizar la composición de carbohidratos estructurales y la concentración de lignina de las muestras para estimar producción potencial de etanol. La determinación de carbohidratos estructurales resulta compleja, pero existen métodos indirectos de fácil aplicación como la determinación de: Fibra Detergente Neutro (FDN), equivalente al concepto de pared celular, compuesta por celulosa, hemicelulosa y lignina; Fibra Detergente Ácido (FDA), relacionada con la fracción de celulosa y lignina de la pared celular, que por diferencia con la FDN (FDN - FDA) nos da idea de la fracción hemicelulósica; y Lignina Detergente Ácido (LDA), que por diferencia con FDA (FDA - LDA) resulta el contenido de lignina. Lorenz *et al.* (2009 a), determinaron

que la concentración de glucanos representa el 85 % de la celulosa contenida en el tallo, y la concentración de xilanos + arabinanos como el 64% de la concentración de hemicelulosa del tallo de maíz.

La calidad de las materias primas celulósicas es, principalmente, una función de la concentración total de polisacáridos y de su convertibilidad (Dien *et al.*, 2006). El rendimiento teórico de etanol es la cantidad máxima de etanol que se puede obtener por unidad de masa de materia prima y se calcula a partir de la concentración de los diferentes carbohidratos estructurales (USDOE, 2006). El aumento de la convertibilidad del rastrojo de maíz a través del mejoramiento podría disminuir significativamente los costos del proceso y de este modo mejorar los índices económicos de etanol proveniente de rastrojo de maíz o restos de espiga (Lynd *et al.*, 2008). Sin embargo, si los avances en los procesos tecnológicos hacen posible el 100% de conversión de carbohidratos estructurales, el rendimiento teórico de etanol será el factor más relevante en la calidad de la materia prima (Lorenz *et al.*, 2009 a).

A pesar de que la convertibilidad de glucano mejorará a medida que se realicen mejoras en la tecnología del pretratamiento e hidrólisis, el desarrollo de materias primas con inherente mayor convertibilidad disminuirá los costos de procesamiento y favorecerá la economía de la producción de etanol celulósico (Lorenz *et al.*, 2009 a).

Existe variación genética entre los distintos materiales de maíz tanto en rendimiento como en calidad nutricional del rastrojo. Esta variabilidad podría ser aprovechada para la selección y recomendación de nuevos materiales de maíz destinados a la producción de etanol celulósico (Lorenz *et al.*, 2009 a). La mejora debería incrementar la digestibilidad de la caña + hojas, reducir la lignina y aumentar la biomasa. Según Pedersen *et al.* (2005) la reducción en el contenido de lignina generalmente va acompañada por una concomitante reducción en la biomasa, por consiguiente, cualquier reducción de ésta debería estar compensada por un incremento en el rendimiento de azúcares totales fermentables.

Por lo tanto, los ensayos de calidad de forraje utilizados en la alimentación de rumiantes son también potencialmente útiles como métodos para la evaluación de la aptitud de conversión de la materia prima en bioetanol (Lorenz *et al.*, 2009 a). En otras palabras, el uso de rastrojo de maíz para la producción de combustibles líquidos es análogo al uso de forrajes para la nutrición de rumiantes. (Lorenz *et al.*, 2009 a).

A través de variables de calidad y rendimiento de biomasa útiles en nutrición animal, se estimará el rendimiento potencial de etanol (RE) mediante fórmulas descriptas en Zhao *et al.* (2009). Se produce así un ahorro al prescindir de las determinaciones físicas reales de la transformación de la materia prima en alcohol.

### **Biocombustibles a nivel nacional**

De acuerdo con los compromisos previstos por el Protocolo de Kyoto (Patrouilleau *et al.*, 2006), y posterior y más reciente, al Acuerdo de París, Argentina como país participante, se comprometió a reducir las emisiones de gases de efecto invernadero y así mitigar los daños generados por el cambio climático. Una de las estrategias para cumplir con el acuerdo existente es la producción y utilización de biocombustibles. La ley Nacional N° 26.093 (2006) estimula la producción de bioetanol, estableciendo que a partir del año 2010 todos los combustibles que se expendieran en Argentina (gasoil y naftas) deberían contener un mínimo del 5% de biocombustibles. Su implementación obligatoria se prorrogó a partir del 1° de enero del 2012. En la actualidad, la mezcla ascendió a 10 % para el biodiesel incorporado con el gasoil y 12 % de bioetanol en mezcla con naftas de uso automotor (Resolución 37/2016, Ministerio de Energía de la Nación).

En Argentina, el corte de las naftas con bioetanol hoy es posible debido a la capacidad instalada de producción de 14 refinerías productoras de etanol a partir de caña de azúcar (9 plantas) y almidón de maíz (5 plantas). En el período 2015 - 2016 se ha alcanzado un nivel de producción de 875.000 m<sup>3</sup> (59 % proveniente de maíz y 41 % de caña de azúcar). Las fuerzas impulsoras para esta extraordinaria expansión en la producción nacional de etanol fueron principalmente estratégicas y económicas (Grasso 2016).

El bio-sustituto clásico de las naftas es el etanol, ya que puede utilizarse directamente como aditivo antidetonante en pequeñas proporciones (5 – 10 %), o transformado en ETBE (etilterbutil éster) para reemplazar al MTBE (metilterbutil éster). El ETBE es utilizado debido a que reduce el impacto ambiental (Ballesteros Perdices, 2006). Además, puede emplearse como combustible directo sin corte con hidrocarburos fósiles en su forma no anhídrica, en motores específicamente diseñados a tal efecto, o en cualquier proporción de corte con naftas de origen fósil (10 – 85 %) en motores con tecnología FFV (Flexible Fuel Vehicles) (Ballesteros Perdices, 2006).

Las biorrefinerías nacionales mediante hidrólisis enzimática del almidón contenido en el grano de maíz obtienen glucosa y su posterior fermentación a etanol, lo que clasifica a este combustible como biocombustible de primera generación, debido a que éstos son elaborados a partir de materias primas que contienen azúcares, almidón, aceites vegetales o grasas animales, utilizando técnicas convencionales, relativamente sencillas.

Los bio-combustibles, para ser reconocidos como tales, deben cumplir con ciertos requisitos (parámetros) ambientales. Es decir que el prefijo “bio” no está indicando su origen biológico, sino el proceso global de producción que implica sustentabilidad ambiental (Grasso 2016).

El uso de granos destinados a la alimentación humana y animal para la producción de bioetanol, de primera generación, produce una competencia directa entre energía y alimentos. Similarmente, cultivos energéticos como algunas Poáceas perennes de gran rendimiento en biomasa como *Miscanthus giganteus*, que también podrían competir indirectamente con la producción de

alimentos si crecen en lotes con aptitud para cultivos agrícolas tales como trigo, maíz, soja (Walsh *et al.*, 2003).

La utilización de biomasa residual de cultivos agrícolas, como el rastrojo de maíz, puede ser una alternativa atractiva para la obtención de bioenergía. La producción de biocombustibles de segunda generación (transformación de la celulosa) no compete con la producción directa de alimentos.

### **Rastrojo como materia prima para la producción de etanol**

Un estudio de análisis de ciclo de vida concluye que los residuos de cultivos, como el rastrojo de maíz, podrían proveer grandes reducciones en las emisiones de gases de efecto invernadero en comparación con los cultivos energéticos, porque no es necesario un cambio en el uso de la tierra (Searchinger *et al.*, 2008).

En Estados Unidos, además de utilizar el grano de maíz, se procesan los residuos de cosecha (rastrojo), siendo este subproducto un recurso altamente renovable. De esta forma se aprovecha la gran cantidad de biomasa aérea que genera el cultivo, de la cual aproximadamente el 60% (caña + hojas + marlo + chala) queda en el suelo (Graham *et al.*, 2007).

En el año 2011 más de 150 millones de toneladas de residuos agrícolas podrían haber sido removidos de forma sostenible en Estados Unidos, de los cuales el 82% correspondería a rastrojo de maíz. Según las proyecciones para el año 2030 se estima que más de 207 millones de toneladas de residuos agrícolas podrán ser utilizados de forma sustentable para la producción de bioenergía. Esta fuente de biomasa tiene potencial para producir más de 68 millones de litros de biocombustibles celulósicos (Muth, 2013).

La remoción de residuos agrícolas se debe manejar con cuidado para ser sostenible, la variabilidad espacial y temporal (suelo, clima y prácticas agrícolas) impactan en la seguridad de suministro. Los residuos desempeñan una serie de funciones claves dentro de un sistema agronómico, incluidos los impactos directos e indirectos sobre la física, química y procesos biológicos en el suelo (Wilhelm *et al.*, 2010; Karlen *et al.*, 2003; Johnson *et al.*, 2006; Wilhelm *et al.*, 2007).

Esta biomasa presenta una estructura compleja compuesta de tres fracciones que deben ser procesadas por separado para asegurar su conversión eficiente a etanol: celulosa, hemicelulosa y lignina.

La producción de etanol a partir de biomasa lignocelulósica se basa en un pretratamiento y posterior hidrólisis de la materia prima, para lo cual se presentan tres alternativas: hidrólisis ácida, hidrólisis enzimática y procesos termoquímicos. El pretratamiento tiene como objetivo desintegrar la matriz de carbohidratos de tal manera que la celulosa reduzca su grado de cristalinidad y aumente la celulosa amorfa, que es la más adecuada para el posterior ataque enzimático. Adicionalmente, la mayor parte de la hemicelulosa se hidroliza durante el pretratamiento y la lignina se libera, o puede incluso descomponerse en algunos casos, con producción de compuestos perjudiciales al proceso fermentativo subsiguiente. En una etapa posterior, la celulosa liberada es sometida a hidrólisis

enzimática, obteniéndose una solución de azúcares fermentables que contiene principalmente glucosa, así como pentosas (xilosas) resultantes de la hidrólisis inicial de la hemicelulosa (Sun & Cheng, 2002). Un problema por resolver es disminuir los costos relacionados con la conversión de polisacáridos a azúcares simples. Una opción es la disminución de procesos como sucede en la SSF (Dowe & McMillan, 2008), donde dos etapas pueden ser combinadas en una sola operación, evitando el producto final de la inhibición de las enzimas hidrolíticas y eliminando la necesidad del uso de reactores separados para la hidrólisis y la fermentación.

Como se ha mencionado los híbridos que llevan los alelos *bmr* y *Lfy1* han sido útiles para la producción de ensilaje de maíz y pueden ser también beneficiosos para la producción de materia prima de etanol celulósico (Lorenz *et al.*, 2009 a). Ya que los "leafy" producen más rastrojo digestible (Shaver, 1983) y los *bmr* presentan menor contenido de lignina, ambos le confieren al rastrojo una mayor digestibilidad (Oba & Allen, 1999; Coors & Lauer, 2001), liberando más glucosa luego de la sacarificación enzimática (Vermerris *et al.* 2007; Saballos *et al.* 2008).

Por todos los antecedentes mencionados, independientemente que el destino de producción de un híbrido sea grano o silaje, en la medida que posea una buena calidad de caña + hoja, considerada como digestibilidad y digestibilidad de la fibra, sería posible su selección pensando que, al finalizar la cosecha, el rastrojo remanente podría contener también buena calidad para la producción de etanol.

A modo de ejemplo, se citan variedades de maíz dulce que producen 10 toneladas ha<sup>-1</sup> de biomasa residual con alto contenido de azúcares solubles (25 % de materia seca). El potencial de etanol producido a partir de azúcares solubles y estructurales extraídos del rastrojo de maíz dulce alcanzó a 4.400 l ha<sup>-1</sup> en los híbridos más productivos, cuyo 33% (1.500 l ha<sup>-1</sup>) fue obtenido por fermentación directa de azúcares libres (Barros-Rios *et al.*, 2015). La producción potencial de bioetanol de biomasa lignocelulósica de híbridos de maíz dulce fue aproximadamente 0,3 l kg<sup>-1</sup> de materia seca o 2.500 l ha<sup>-1</sup>. El doble propósito de los híbridos de maíz dulce puede añadir valor a los productores contribuyendo a la generación de energía sin afectar el suministro de alimentos o el medio ambiente. La producción total de bioetanol obtenida de ambas fracciones, azúcares solubles y polisacáridos estructurales, en los híbridos de maíz dulce que resultaron más productivos (GSS2259 and Flavorvee) se estimó en 4.600 l ha<sup>-1</sup>, lo cual está en el rango de la producción total de bioetanol a partir de azúcares estructurales en los híbridos más rendidores de grano (Lorenz *et al.*, 2009 a).

Debido a que se evaluaron variables de calidad (digestibilidad *in vitro* (DIV), FDN, FDA y LDA) y rendimiento de biomasa (rendimiento de materia seca, RMS) en híbridos de maíz al momento de pre-cosecha (entre 30 y 40% de materia seca de la planta completa) se recurre a la bibliografía disponible para asumir que no existirían grandes diferencias, al menos en ciertas variables, como digestibilidad y contenido de fibra, entre este momento fenológico y la postcosecha (rastrojo). Ruiz



Evolución de la aptitud forrajera en híbridos de maíz. Su relación con la producción de etanol.

(1993), no encontró diferencias significativas en el contenido promedio de DIV, porcentaje de FDA y otras variables, entre hojas verdes y secas de maíz.

Es importante remarcar que no existen datos y estudios de calidad nutricional de maíz de larga duración a nivel nacional, y análisis en profundidad de la fracción vegetativa (caña + hoja), en áreas ganaderas o agrícola-ganaderas fuera de la zona núcleo, como las localidades de la provincia de Buenos Aires evaluadas en esta tesis.

## **2. OBJETIVOS**

a.- Estimar el grado de evolución en los últimos dieciséis años de híbridos de maíz a través de las variables de calidad y rendimiento de biomasa y su relación para la producción potencial de bioetanol.

b.- Encontrar un patrón de agrupamiento de sitios que permita describir regiones que generen condiciones favorables para la producción potencial de bioetanol.

## **3. HIPÓTESIS**

La mejora genética de los híbridos de maíz orientada a mayor rendimiento de grano ha disminuido la calidad forrajera de las fracciones vegetativas caña y hojas. Por lo tanto, se ha reducido su potencialidad para la producción de bioetanol a partir del rastrojo.

## **4. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **4.1 Obtención de Datos**

Los datos que se utilizaron para el desarrollo de esta tesis fueron extraídos a partir de la información generada por el Laboratorio NIRS – Cátedras de Cerealicultura y Manejo de Recursos Forrajeros de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Lomas de Zamora. Dicha información consta de determinaciones de rendimiento y calidad de biomasa realizadas sobre muestras de diversos híbridos de maíz (comerciales y experimentales) pertenecientes a diferentes empresas. Los híbridos fueron variando de año a año en función de lo que las empresas asumían cuáles eran los mejores materiales para silaje.

Fueron evaluados en múltiples localidades de la provincia de Buenos Aires, en condiciones de ensayos en parcelas experimentales y también a campo, en lotes de producción. Los datos abarcaron 16 años de estudio, comenzando a partir de la campaña 1999 - 2000 hasta 2014 - 2015.

#### **4.1.1 Confección matriz de datos**

Mediante la recopilación de los resultados de los ensayos realizados por las Cátedras de Cerealicultura y Manejo de Recursos Forrajeros presentados en informes anuales de divulgación en la página web [www.cerealesyforrajes.com](http://www.cerealesyforrajes.com), conjuntamente con resultados almacenados en discos (PC y diskettes), se procedió a la confección de la matriz de datos.

Inicialmente se contemplaron los resultados de ensayos desde la campaña 1991 – 1992 a 2014 - 2015. Sin embargo, se decidió eliminar las campañas comprendidas entre los años 1991 al 1998 inclusive, debido a que durante esos años no pudieron ser evaluadas las diversas variables de calidad por falta de infraestructura y equipamiento del laboratorio.

Debido a que en los informes los resultados se presentaban por variable analizada, a modo de ranking de híbridos en forma descendente, se procedió a reordenar y compaginar los resultados de cada variable determinada (biomasa y calidad) para cada híbrido y localidad por cada año de estudio, conformando una matriz de híbridos x variables.

Se confeccionaron dos matrices en base a las distintas condiciones experimentales existentes, una matriz obtenida con los datos de ensayos desarrollados en las parcelas experimentales, y otra con los datos obtenidos de muestras extraídas de lotes de producción.

### **4.2 Ensayos a campo**

Los ensayos a campo se pueden dividir en dos grandes grupos, aquellos realizados en condiciones controladas, sin déficit nutricional y con control total de malezas, donde los híbridos pudieron expresar todo su potencial para el ambiente en evaluación, mencionados como ensayos en *parcelas experimentales*. Por otro lado, los ensayos en *lotes de producción* abarcaron, según los años de evaluación, distintas localidades, las cuales forman parte de la medialuna lechera que rodea a la Ciudad Autónoma de Buenos Aires, con un radio de 450 km y centro en Capital Federal. Como

consecuencia en este tipo de ensayo, se relevó un amplio conjunto de tipos de suelos, variables climáticas, tecnología utilizada y diversos manejos agrícolas.

Debido a la elevada cantidad de años de evaluación abarcados, no fue posible repetir los mismos híbridos a lo largo de todo el periodo de estudio. Comúnmente, los híbridos, cedidos por las empresas participantes, fueron cambiados de año a año.

#### 4.2.1 Ensayos en parcelas experimentales

A lo largo de los años se utilizaron 4 campos diferentes donde se sembraron las parcelas experimentales ([Tabla 1](#)):

- 1) Localidad Monte Grande (**MG**, 34° 51' 35,55" S 58° 26' 0" O), partido Esteban Echeverría, provincia de Buenos Aires. Campo experimental de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Lomas de Zamora.
- 2) Localidad Vicente Casares (**VC**, 34° 58' 17,06" S 58° 38' 13,39" O), partido de Cañuelas, provincia de Buenos Aires. Institución: Establecimiento de Fundación de la Leche.
- 3) Localidad de Ezeiza (**E**, 34° 50' 51,68" S 58° 33' 06" O), partido Ezeiza, provincia de Buenos Aires. Campo experimental de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Lomas de Zamora.
- 4) Localidad Virrey del Pino (**VP**, 34° 49' 55,25" S 58° 43' 22,83" O), partido La Matanza, provincia de Buenos Aires. Campo experimental de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Lomas de Zamora.

#### Diseño experimental

Las parcelas fueron distribuidas utilizando un diseño de bloques aleatorizado con 3 o 4 repeticiones, según el año. La unidad experimental constaba de dos surcos de 5 a 5,2 m. de largo por híbrido evaluado, separados entre sí a 0,52 o 0,70 m, dependiendo el año. Dentro del surco las plantas fueron distanciadas a 20 o 25 cm. Los lotes fueron sometidos a labranza convencional. La siembra fue realizada con bastón sembrador con 2 semillas por golpe. La densidad de siembra fue de 143.000 plantas ha<sup>-1</sup>, para luego realizar un raleo al estado de dos a tres hojas verdaderas y así homogeneizar de 71.500 a 80.000 plantas ha<sup>-1</sup>; stand que se mantuvo hasta la cosecha. Después de la siembra se aplicó Atrazina + Metolachlor y Carbofurán. Se fertilizó con 45 kg ha<sup>-1</sup> de fosfato diamónico en preemergencia y con 100 kg ha<sup>-1</sup> de urea granulada al estado de V6. El momento de cosecha se determinó cuando el 50 % de las plantas de la unidad experimental alcanzaron 2/3 del grano en estado lechoso.

La [tabla 1](#) muestra el lugar y el año de la campaña donde se realizaron los ensayos en parcelas experimentales, la fecha de siembra, fecha de cosecha, las precipitaciones en mm. y las temperaturas mínimas, media y máximas (°C) que se sucedieron durante el período de ensayo en

cada una de las localidades evaluadas. Cuando no se encontró en los informes técnicos las condiciones climáticas ocurridas en cada campaña, se obtuvieron bases de datos climatológicas (temperaturas y precipitaciones) cedidas por el Instituto de Clima y Agua del INTA, para la localidad más cercana a los ensayos.

**Tabla 1:** Ensayos en parcelas experimentales

| <b>Campaña</b> | <b>Loc.</b> | <b>Fecha de Siembra</b> | <b>Fecha de Cosecha</b> | <b>Pp (mm)</b> | <b>Temp Min. (°C)</b> | <b>Temp Med. (°C)</b> | <b>Temp Max. (°C)</b> |
|----------------|-------------|-------------------------|-------------------------|----------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| 1999-00        | <b>MG</b>   | 26-10-1999              | 19 a 27-2-2000          | 379,8          | 15,6                  | 21,6                  | 27,6                  |
| 2000-01        | <b>MG</b>   | 05-10-2000              | 2-2-2001                | 812,6          | 15,4                  | 21,0                  | 26,7                  |
| 2001-02        | <b>VC</b>   | 16-11-2001              | 6-3-2002                | 979,5          | 16,1                  | 21,5                  | 26,9                  |
| 2002-03        | <b>E</b>    | 18 a 23-10-2002         | 15-2-2003               | 936,9          | 16,0                  | 21,4                  | 26,8                  |
| 2003-04        | <b>E</b>    | 10 y 22-11-2003         | 10-3-2004               | 581            | 15,6                  | 21,7                  | 27,7                  |
| 2004-05        | <b>VC</b>   | 20 y 21-10-2004         | 14-2-2005               | 525            | 15,6                  | 21,3                  | 26,9                  |
| 2005-06        | <b>VC</b>   | 20 y 21-10-2005         | 28-2 a 9-3-2006         | 968,5          | 14,4                  | 20,5                  | 26,6                  |
| 2006-07        | <b>VC</b>   | 18,19 y 20-10-2006      | 8-2 a 9-3-2007          | 897,5          | 15,3                  | 21,2                  | 27,1                  |
| 2007-08        | <b>VC</b>   | 24 y 25-10-2007         | 20-2 a 14-3-2008        | 949,5          | 15,1                  | 21,0                  | 26,9                  |
| 2008-09        | <b>VC</b>   | 24-10-2008              | 16 a 18-2-2009          | 466,4          | 16,1                  | 22,4                  | 28,7                  |
| 2009-10        | <b>VP</b>   | 14-10-2009              | 10 a 17-2-2010          | 1004,2         | 15,7                  | 21,1                  | 26,5                  |
| 2010-11        | <b>VP</b>   | 28-10-2010              | 17-2 a 10-3-2011        | 463            | 15,9                  | 22,4                  | 28,8                  |
| 2011-12        | <b>VP</b>   | 05-11-2011              | 5 a 15-3-2012           | 452,7          | 16,9                  | 23,2                  | 29,6                  |
| 2012-13        | <b>VP</b>   | 05-12-2012              | 21 a 29-3-2013          | 685            | 13,7                  | 19,6                  | 25,5                  |
| 2013-14        | <b>VP</b>   | 05-10-2013              | 11 a 18-02-2014         | 791            | 16,1                  | 21,9                  | 27,8                  |
| 2014-15        | <b>VP</b>   | 03-10-2014              | 3 al 20-02-2015         | 709,4          | 15,9                  | 21,8                  | 27,8                  |



**Figura 3:** Localidades de ensayos de parcelas experimentales.

#### 4.2.2 Ensayos en lotes de producción

En cada campaña, 5 a 6 localidades de la provincia de Buenos Aires fueron seleccionadas aleatoriamente. En las mismas un número variable de híbridos fueron sembrados y seleccionados también por azar. La [tabla 2](#) muestra las localidades utilizadas por cada año de campaña, la fecha de siembra, la fecha de cosecha, las precipitaciones en mm. y las temperaturas mínimas, medias y máximas en °C que se sucedieron durante el período de ensayo.

**Tabla 2:** Ensayos en lotes de producción.

| Campaña | Localidad Partido                | Fecha de Siembra | Fecha de Cosecha | Pp (mm) | Temp Min. (°C) | Temp Med. (°C) | Temp Max. (°C) |
|---------|----------------------------------|------------------|------------------|---------|----------------|----------------|----------------|
| 1999-00 | Arenaza, Lincoln                 | 14-10-1999       | 15-2-2000        | 435,5   | 14,7           | 21,7           | 28,6           |
| 1999-00 | Lobos                            | 13-10-1999       | 13-2-2000        | 401     | 15,6           | 21,6           | 27,6           |
| 1999-00 | Monte Grande, Esteban Echeverría | 21-10-1999       | 17-2-2000        | 401     | 15,6           | 21,6           | 27,6           |
| 1999-00 | Cnel. Bavio, Magdalena           | 13-10-1999       | 14-2-2000        | 404     | 14,9           | 20,0           | 25,5           |
| 1999-00 | Tandil                           | 12-11-1999       | 26-2-2000        | 500     | 12,2           | 19,5           | 26,8           |
| 2000-01 | Arenaza, Lincoln                 | 15-10-2000       | 7-2-2001         | 711,2   | 13,9           | 20,5           | 27,2           |

Evolución de la aptitud forrajera en híbridos de maíz. Su relación con la producción de etanol.

|         |                                     |            |            |        |      |       |      |
|---------|-------------------------------------|------------|------------|--------|------|-------|------|
| 2000-01 | Lobos                               | 17-11-2000 | 18-2-2001  | 652,4  | 16,2 | 22,62 | 29,1 |
| 2000-01 | Monte Grande,<br>Esteban Echeverría | 10-11-2000 | 2-2-2001   | 401,8  | 16,2 | 22,62 | 29,1 |
| 2000-01 | Cnel. Bavio,<br>Magdalena           | 17-11-2000 | 20-2-2001  | 451,5  | 14,7 | 19,9  | 24,4 |
| 2000-01 | Tandil                              | 16-11-2000 | 22-2-2001  | 670,7  | 11,3 | 18,8  | 26,2 |
| 2001-02 | Navarro                             | 10-9-2001  | 7-3-2002   | 1006   | 14,7 | 19,8  | 24,9 |
| 2001-02 | Lobos                               | 3-12-2001  | 8-3-2002   | 1133   | 16,7 | 22,2  | 27,7 |
| 2001-02 | Vicente Casares,<br>Cañuelas        | 15-11-2001 | 10-3-2002  | 931,9  | 16,1 | 21,5  | 26,9 |
| 2001-02 | Cnel. Bavio,<br>Magdalena           | 4-12-2001  | 28-3-2002  | 1304   | 16,4 | 20,8  | 25,5 |
| 2001-02 | Tandil                              | 14-11-2001 | 12-3-2002  | 1044   | 11,7 | 18,2  | 24,7 |
| 2002-03 | Castelli                            | 15-11-2002 | 7-03-2003  | 545    | 14,8 | 19,0  | 25,0 |
| 2002-03 | Navarro                             | 1-11-2002  | 24-02-2003 | 845,3  | 16,6 | 22,1  | 27,6 |
| 2002-03 | Oliden, Brandsen                    | 10-12-2002 | 18-03-2003 | 647,6  | 13,6 | 17,5  | 25,7 |
| 2002-03 | Arenaza, Lincoln                    | 31-10-2002 | 13-02-2003 | 626,7  | 15,6 | 21,8  | 28,0 |
| 2002-03 | Tandil                              | 22-11-2002 | 20-03-2003 | 781,1  | 12,3 | 18,8  | 25,3 |
| 2003-04 | Arenaza, Lincoln                    | 22-10-2003 | 11-3-2004  | 485,6  | 13,8 | 21    | 28,3 |
| 2003-04 | Chillar, Azul                       | 25-10-2003 | 20-2-2004  | 547,60 | 10,3 | 17,3  | 24,3 |
| 2003-04 | Vicente Casares,<br>Cañuelas        | 3-11-2003  | 3-3-2004   | 538    | 15,6 | 21,7  | 27,7 |
| 2003-04 | Lobos                               | 7-11-2003  | 23-3-2004  | 538    | 15,6 | 21,7  | 27,7 |
| 2003-04 | Tandil                              | 4-11-2003  | 30-3-2004  | 578,8  | 11,3 | 18,4  | 25,5 |
| 2004-05 | Arenaza, Lincoln                    | 15-10-2004 | 22-02-2005 | 664,5  | 14,3 | 20,8  | 27,2 |
| 2004-05 | Gral. Belgrano                      | 1-10-2004  | 18-02-2005 | 596,0  | 13,2 | 19,1  | 25,2 |
| 2004-05 | Vicente Casares,<br>Cañuelas        | 2-12-2004  | 19-04-2005 | 565,6  | 15,6 | 21,5  | 27,2 |
| 2004-05 | Cnel. Bavio,<br>Magdalena           | 19-10-2004 | 24-02-2005 | 669,6  | 15,3 | 19,5  | 24,6 |
| 2004-05 | Tandil                              | 1-11-2004  | 17-03-2005 | 472,2  | 11,9 | 18,7  | 25,6 |
| 2005-06 | Tandil                              | 28-10-2005 | 3-4-2006   | 453    | 9,6  | 17    | 24,4 |
| 2005-06 | Cañuelas                            | 29-11-2005 | 8-03-2006  | 750,7  | 15,4 | 21,5  | 27,6 |
| 2005-06 | Arenaza, Lincoln                    | 11-11-2005 | 8-3-2006   | 883    | 14,9 | 21,8  | 28,7 |

Evolución de la aptitud forrajera en híbridos de maíz. Su relación con la producción de etanol.

|         |                             |            |                 |        |      |      |      |
|---------|-----------------------------|------------|-----------------|--------|------|------|------|
| 2005-06 | Suipacha                    | 29-11-2005 | 8-3-2006        | 943    | 15,2 | 21,6 | 28   |
| 2005-06 | Vicente Casares, Cañuelas   | 17-11-2005 | 28-2-2006       | 729    | 16,1 | 22,2 | 28,3 |
| 2005-06 | Cnel. Bavio, Magdalena      | 16-11-2005 | 28-3-2006       | 729    | 15   | 19,8 | 25   |
| 2006-07 | Vicente Casares, Cañuelas   | 06-11-2006 | 09-03-2007      | 890,3  | 15,9 | 21,8 | 27,7 |
| 2006-07 | Tandil                      | 10-11-2006 | 23-02-2007      | 430,9  | 11,8 | 19,4 | 27,0 |
| 2006-07 | Manuel Ocampo, Pergamino    | 15-11-2006 | 13-03-2007      | 1099,1 | 15,5 | 21,8 | 28,1 |
| 2006-07 | Gral. Belgrano              | 20-11-2006 | 11-04-2007      | 756,7  | 13,8 | 20,1 | 26,6 |
| 2006-07 | Castelli                    | 31-10-2006 | 23-02-2007      | 745    | 14,0 | 20,2 | 26,7 |
| 2006-07 | Arenaza, Lincoln            | 01-11-2006 | 28-02-2007      | 873,2  | 15,1 | 21,5 | 27,9 |
| 2007-08 | Ameghino                    | 17-12-2007 | 21-04-2008      | 397,6  | 15,0 | 22,3 | 29,8 |
| 2007-08 | Cañuelas                    | 03-12-2007 | 08-04-2008      | 827,2  | 15,8 | 21,7 | 27,5 |
| 2007-08 | Gral. Belgrano              | 29-10-2007 | 12-03-2008      | 796,9  | 13,5 | 19,5 | 25,9 |
| 2007-08 | Vicente Casares, Cañuelas   | 26-10-2007 | 25-02-2008      | 826,6  | 14,9 | 21,0 | 27,1 |
| 2007-08 | Tandil                      | 30-10-2007 | 02-04-2008      | 491,9  | 10,1 | 17,3 | 24,5 |
| 2007-08 | Lezama                      | 06-11-2007 | 17-03-2008      | 735,9  | 13,6 | 19,0 | 25,4 |
| 2007-08 | Las Flores                  | 30-11-2007 | 17-04-2008      | 819,4  | 13,0 | 19,8 | 26,6 |
| 2008-09 | Virrey del Pino, La Matanza | 18-12-2008 | 20-04-2009      | 466,4  | 16,1 | 22,4 | 28,7 |
| 2008-09 | Tandil                      | 20-11-2008 | 01-04-2009      | 372,5  | 11,6 | 19,4 | 27,4 |
| 2008-09 | Olavarría                   | 24-11-2008 | 29-03-2009      | 270,6  | 12,7 | 20,5 | 28,3 |
| 2008-09 | Gral. Belgrano              | 27-10-2008 | 17-02-2009      | 295    | 13,7 | 21,2 | 28,8 |
| 2008-09 | Cañuelas                    | 24-10-2008 | 18-02-2009      | 371,4  | 16,1 | 22,4 | 28,7 |
| 2009-10 | Castelli                    | 10-10-2009 | 1 al 5-3-2010   | 811    | 13,5 | 19,3 | 25,4 |
| 2009-10 | Gral. Belgrano              | 10-10-2009 | 15 al 21-2-2010 | 855    | 13,4 | 20,2 | 27,2 |
| 2009-10 | Lobos                       | 3-10-2009  | 12 al 17-2-2010 | 1062   | 15,7 | 21,1 | 26,5 |
| 2009-10 | Olavarría                   | 25-11-2009 | 20 y 26-3-2010  | 655    | 11,9 | 18,9 | 25,8 |
| 2009-10 | Tandil                      | 9-11-2009  | 15 al 22-3-2010 | 653,2  | 9,5  | 16,6 | 23,6 |
| 2009-10 | Virrey del Pino, La Matanza | 21-12-2009 | 15 al 21-4-2010 | 999    | 17,5 | 22,8 | 28,1 |



Evolución de la aptitud forrajera en híbridos de maíz. Su relación con la producción de etanol.

|         |                             |                   |                   |                                |      |      |       |
|---------|-----------------------------|-------------------|-------------------|--------------------------------|------|------|-------|
| 2010-11 | Virrey del Pino, La Matanza | 28-10-2010        | 17-2 al 10-3-2011 | 463                            | 15,9 | 22,4 | 28,82 |
| 2010-11 | Castelli                    | 13-10-2010        | 14-2-2011         | 364,5                          | 13,1 | 19,3 | 25,8  |
| 2010-11 | Gral. Belgrano              | 26-10-2010        | 14-2-2011         | 371                            | 12,8 | 19,7 | 26,8  |
| 2010-11 | Lobos                       | 8-10-2010         | 3-2-2011          | 419                            | 14,9 | 21,2 | 27,6  |
| 2010-11 | Chivilcoy                   | 18-10-2010        | 14-2-2011         | 465                            | 13,5 | 21,4 | 29,2  |
| 2011-12 | Uribelarrea, Cañuelas       | 20-10-2011        | 5 al 12-03-2012   | 762                            | 15,9 | 22,1 | 28,3  |
| 2011-12 | Gral. Belgrano              | 31-10-2011        | 16-03-2012        | 701,5                          | 13,5 | 20,6 | 27,8  |
| 2011-12 | Virrey del Pino, La Matanza | 15-11-2011        | 20-03-2012        | 450<br>(riegos<br>40*3)<br>570 | 16,9 | 23,2 | 29,6  |
| 2011-12 | Báez, Suipacha              | 24-10 y 2-12-2011 | 12-4-2012         | 708                            | 15,1 | 21,3 | 27,5  |
| 2012-13 | Chascomús                   | 12-12-2012        | 6-5-2013          | 784                            | 14,4 | 19,7 | 25,2  |
| 2012-13 | Uribelarrea, Cañuelas       | 3-12-2012         | 27-3-2013         | 708                            | 16,3 | 22,5 | 28,6  |
| 2012-13 | Gral. Belgrano              | 5-11-2012         | 6-3-2013          | 506,5                          | 14,1 | 20,9 | 27,8  |
| 2012-13 | Virrey del Pino, La Matanza | 12-11-2012        | 1-3-2013          | 660                            | 16   | 22,2 | 28,3  |
| 2012-13 | Tandil                      | 24-10-2012        | 22-2-2013         | 811                            | 10,9 | 18,2 | 25,6  |
| 2013-14 | Tandil                      | 29-10-2013        | 27-02-2014        | 687                            | 11,3 | 18,7 | 26,1  |
| 2013-14 | Virrey del Pino, La Matanza | 9-10-2013         | 13-02-2014        | 791                            | 16,1 | 21,9 | 27,8  |
| 2013-14 | Gral. Belgrano              | 11-12-2013        | 16-04-2014        | 503                            | 14,2 | 20,6 | 27    |
| 2013-14 | Uribelarrea, Cañuelas       | 17-12-2013        | 9-5-2014          | 969                            | 14,8 | 20,4 | 25,9  |
| 2013-14 | Del Carril, Saladillo       | 12-12-2013        | 6-5-2014          | 911                            | 12,9 | 19,1 | 25,3  |
| 2014-15 | Castelli                    | 17-10-2014        | 19-02-2015        | 780                            | 14,5 | 20,5 | 26,5  |
| 2014-15 | San Miguel del Monte        | 18-10-2014        | 26-02-2015        | 705                            | 15   | 21,2 | 27,5  |
| 2014-15 | Tandil                      | 21-10-2014        | 16-03-2015        | 755                            | 11,1 | 18,5 | 25,9  |
| 2014-15 | Del Carril, Saladillo       | 27-10-2014        | 4-3-2015          | 530                            | 14   | 20,7 | 27,5  |
| 2014-15 | Virrey del Pino, La Matanza | 11-12-2014        | 1-4-2015          | 634                            | 16,3 | 22,4 | 28,5  |



**Figura 4:** Localidades de ensayos de lotes de producción.

#### **4.3 Variables estudiadas**

Las variables que forman parte del trabajo de tesis tienen estrecha correlación con la calidad nutricional y provienen de la fracción vegetal caña + hojas (**C+H**).

Las variables analizadas fueron:

- 1.- Rendimiento en materia seca de caña + hojas ( $\text{kg ha}^{-1}$ ), **RMS**.
- 2.- Digestibilidad *in vitro* de la materia seca de caña + hojas (%), **DIV**.
- 3.- Fibra detergente neutro de caña + hojas (%), **FDN**.
- 4.- Fibra detergente ácido de caña + hojas (%), **FDA**.
- 5.- Lignina detergente ácido de caña + hojas (%), **LDA**.
- 6.- Rendimiento potencial de etanol de caña + hojas ( $\text{l ha}^{-1}$ ), **RE**.

Las variables RMS, DIV, FDN, FDA y LDA fueron obtenidas por mediciones directas sobre C+H y el RE fue producto de un cálculo detallado a continuación.

#### **4.4 Obtención y procesamiento de muestras**

La cosecha se realizó cuando el 50% de las plantas alcanzó aproximadamente entre un 30 y 40% de materia seca de planta completa, momento donde se conjuga el máximo rendimiento con la máxima calidad nutricional (Lusk, 1978). La determinación de este momento fue muy importante ya que permitió evaluar híbridos de diferente ciclo sin que el estado de madurez interfiera en las comparaciones de rendimiento y calidad.

Se cosechó la parcela completa, separando las espigas de la planta y pesando las distintas fracciones vegetales. Posteriormente, se tomó una muestra de 400 gramos por entrada, provenientes de 10 plantas elegidas al azar de la parte vegetativa (C + H), y previo secado en estufa a 60°C hasta peso constante, se calculó el porcentaje de materia seca. Con el objetivo de realizar la homogeneización del muestreo se utilizó el fitómero completo, que portaba la espiga principal, como unidad para los análisis de laboratorio. Las muestras secas fueron molidas hasta un tamaño de partícula de 1 mm para proseguir con los análisis de laboratorio.

##### **4.4.1 Análisis de Laboratorio húmedo**

La DIV, FDN, FDA y LDA de la C+H se determinaron mediante la utilización de espectroscopía cercana al infrarrojo (analizador NIRS FOSS SYSTEM modelo 6500). Las curvas de calibración necesarias para el funcionamiento del equipo se generaron en el laboratorio húmedo a partir del método de digestibilidad enzimática, de acuerdo con Gabrielsen (1986), y la calibración para FDN, FDA y LDA se realizó mediante el método ANKOM.

Los análisis del laboratorio húmedo estuvieron basados en las metodologías propuestas por la A.O.A.C. (2000). FDN y FDA fueron determinadas según los métodos descritos por Goering & Van Soest (1970), y modificados por Van Soest & Robertson (1980). LDA se obtuvo tratando el residuo insoluble ácido con ácido sulfúrico al 72%. El residuo de la extracción es la lignina (Van Soest, 1994).

Las curvas de calibración se generaron en base a los métodos ya descritos (Bertoia *et al.*, 2014).

##### **4.4.2 Estimación del rendimiento potencial de etanol**

Según Zhao *et al.* (2009), se utilizó el siguiente cálculo teórico para estimar el rendimiento potencial de etanol a través del contenido de celulosa y hemicelulosa del componente C+H para cada híbrido ensayado:

**Rendimiento de etanol a partir de celulosa y hemicelulosa (L. ha<sup>-1</sup>) = contenido de celulosa + hemicelulosa en la materia seca C+H (%) \* rendimiento de materia seca C+H (Mg. ha<sup>-1</sup>) \* 1,11 \* 0,85 \* 0,51 \* 0,85 \* 1000/0,79**

1,11: factor de conversión de azúcar a partir de celulosa y hemicelulosa.

0,85: eficiencia de proceso de azúcar a partir de celulosa y hemicelulosa.

0,51: factor de conversión de etanol a partir de azúcar.

0,85: eficiencia de proceso de etanol a partir de azúcar.

1000/0,79: gravedad específica del etanol (g ml<sup>-1</sup>)

El contenido de celulosa se calculó como: FDA – LDA.

El contenido de hemicelulosa se calculó como: FDN – FDA.

#### **4.5 Análisis estadístico**

Se aplicaron métodos uni y multivariados con el objeto de probar diferencias entre años y de detectar las variables más gravitantes en el resultado final. Ambas técnicas fueron aplicadas a los dos conjuntos de datos, diferenciados por sus características experimentales: datos obtenidos de ensayos en parcelas experimentales y datos obtenidos de lotes de producción.

##### **4.5.1 Análisis univariado**

Se calculó la media, el desvío estándar, coeficiente de variación, mínimo y máximo de las variables de calidad y rendimiento de biomasa de cada conjunto de datos (parcelas y lotes) de los 16 años analizados, utilizando el programa Infostat (Di Rienzo *et al.*, 2011).

Para la aplicación de métodos univariados de análisis de las varianzas y de regresión se consideraron como variables respuesta o dependientes a las variables de calidad y rendimiento de biomasa. La diversidad de condiciones encontradas a lo largo de los ambientes (localidades y años) produjo varianzas heterogéneas que no pudieron mejorarse con las transformaciones de datos recomendadas en la bibliografía (Sokal & Rohlf, 1995). Debido a esto, se aplicaron modelos lineales mixtos para todas las variables estudiadas, con el objeto de controlar especialmente homogeneidad de varianza y en algunos casos normalidad.

El año fue utilizado como variable clasificatoria o independiente y fue considerado como un factor fijo y el efecto “híbridos” como factor aleatorio. Dado que los híbridos variaron en cada ambiente, se los jerarquizó, anidándolos dentro de ambientes. Para la comparación múltiple entre las medias de los años, se utilizó la prueba de formación de grupos excluyentes (DGC) (Di Rienzo *et al.*, 2002).

El modelo lineal mixto utilizado del ANVA fue:

$$y_{ij} = \mu + \alpha_i + \varepsilon_{ij}$$

$\mu$  = media general;

$\alpha_i$  = efecto del *i*-ésimo año;

Evolución de la aptitud forrajera en híbridos de maíz. Su relación con la producción de etanol.

$\varepsilon_{ij}$  = error experimental, el efecto del *j*-ésimo genotipo en el *i*-ésimo año. Mide la variación intragrupo.

Además, se estudió la evolución de cada variable a través del tiempo (variable independiente), ajustando rectas de regresión para cada una de las variables y utilizando como covariable al efecto año (Di Rienzo *et al.*, 2011). Se aplicaron modelos lineales mixtos:

$$y_i = \beta_0 + \beta_1 x_i + e_i$$

Dónde:

$y_i$ : es el valor de la variable observado en el año  $x_i$

$\beta_0$  es la ordenada al origen

$\beta_1$  es la pendiente de la recta, representa el aumento o disminución por unidad de cambio de la  $x$

$e_i$  el error del modelo

Se seleccionó el modelo más parsimonioso o de mejor ajuste, mediante la obtención de los estadísticos denominados: Criterio de Akaike (AIC) y/o Criterio Bayesiano de Información (BIC). Los menores valores de AIC o BIC identificaron al modelo con mejor ajuste y la prueba del cociente de verosimilitud permitió corroborar de modo estadísticamente significativo que modelo fue el mejor. En todos los casos se utilizó la interfase del paquete R que presenta el programa Infostat y que utiliza la plataforma R de modelos lineales generales y mixtos a través de los procedimientos `gls` y `lme` de la librería `nlme` (Di Rienzo *et al.*, 2011).

#### 4.5.2 Análisis multivariado

Este análisis permitió agrupar años y ambientes (combinación de localidad por año) a través de las variables de rendimiento y calidad. Se aplicó un Análisis de Cluster (AC). Con este fin se utilizaron matrices con el formato: año  $\times$  variables y ambientes  $\times$  variables (Sneath & Sokal, 1973). Debido a que los caracteres fueron medidos en diferentes unidades, los datos fueron estandarizados a media cero y desviaciones estándar igual a 1. Se construyeron distintas matrices de similitud utilizados variados coeficientes de distancia. Posteriormente se aplicó el procedimiento de varianza mínima de Ward. Este es un método jerárquico que mide la magnitud de las disimilitudes entre clusters, usando la suma de cuadrados entre clusters (BSS). Los fenogramas presentados se eligieron en función del mayor coeficiente de correlación cofenética (CCC). Para probar diferencias entre clusters se aplicó el test de diferencia mínima significativa de Fisher (con  $\alpha = 0,05$ ) por variable separadamente (Sokal & Rohlf, 1995). Previamente se calculó el ANVA univariado utilizando un

modelo lineal mixto y se seleccionó el modelo con mejor ajuste, según el criterio de AIC y BIC, y se corroboró estadísticamente con la prueba del cociente de verosimilitud.

Los análisis multivariados, univariados y los test de comparaciones entre clusters se realizaron con el programa Infostat (Di Rienzo *et al.*, 2011).

Se realizaron correlaciones fenotípicas entre las variables de calidad y rendimiento de biomasa obtenidas en lotes de producción y parcelas experimentales, medidas a través de los años. Con este fin se utilizó el test de correlación de Pearson (Sokal & Rohlf, 1995). También se correlacionaron las medias de las variables calculadas a través de los años con las variables climáticas de cada campaña (precipitación, temperatura mínima, media y máxima).

Tanto las regresiones como las correlaciones de la totalidad de las variables se determinaron para todo el período analizado (1999 – 2014) y el subconjunto de años 2009 – 2014.

## 5. RESULTADOS

### 5.1 Análisis descriptivo

**Tabla 3:** Medias, desvío estándar (DE), coeficiente de variación porcentual (CV), mínimo (Mín) y máximo (Máx) de las variables de calidad (digestibilidad *in vitro*, DIV (%); fibra detergente neutro, FDN (%); fibra detergente ácido, FDA (%) y lignina detergente ácido, LDA (%)) y rendimiento (rendimiento de materia seca, RMS (kg ha<sup>-1</sup>) y rendimiento de etanol, RE (l ha<sup>-1</sup>) en ensayos de parcelas experimentales para el período 1999 a 2014.

| Variable                             | Media    | DE       | CV    | Mín      | Máx      |
|--------------------------------------|----------|----------|-------|----------|----------|
| <b>RMS</b><br>(kg ha <sup>-1</sup> ) | 8.350,91 | 2.420,83 | 28,99 | 3.959    | 20.014   |
| <b>DIV (%)</b>                       | 45,69    | 4,75     | 10,39 | 33,06    | 60,10    |
| <b>FDN (%)</b>                       | 61,96    | 5,05     | 8,15  | 39,63    | 73,29    |
| <b>FDA (%)</b>                       | 34,81    | 2,87     | 8,24  | 21,70    | 44,49    |
| <b>LDA (%)</b>                       | 5,59     | 1,00     | 17,86 | 3,03     | 7,99     |
| <b>RE</b><br>(l ha <sup>-1</sup> )   | 2.418,49 | 618,07   | 28,16 | 1.166,28 | 5.618,20 |

N = 676

Las variables promedio de los 16 años de estudio de RMS y RE presentaron los valores más elevados de CV, siendo la primera variable la que presentó el mayor valor ([Tabla 3](#)). El valor promedio de LDA mostró un CV intermedio. Mientras que los valores promedios de DIV, FDN y FDA tuvieron los CV's más bajos.

El valor promedio de la DIV fue bajo, si consideramos los rangos óptimos deseables para una calidad de maíz estándar.

**Tabla 4:** Medias, desvío estándar (DE), coeficiente de variación porcentual (CV), mínimo (Mín) y máximo (Máx) de las variables de calidad (digestibilidad *in vitro*, DIV (%); fibra detergente neutro, FDN (%); fibra detergente ácido, FDA (%) y lignina detergente ácido, LDA (%)) y rendimiento (rendimiento de materia seca, RMS (kg ha<sup>-1</sup>) y rendimiento de etanol, RE (l ha<sup>-1</sup>) en ensayos de lotes de producción para el período 1999 a 2014.

| Variable                             | Media    | DE       | CV    | Mín    | Máx      |
|--------------------------------------|----------|----------|-------|--------|----------|
| <b>RMS</b><br>(kg ha <sup>-1</sup> ) | 9.005,34 | 2.835,86 | 31,49 | 2.453  | 21.467   |
| <b>DIV (%)</b>                       | 45,06    | 6        | 13,32 | 29,33  | 65,8     |
| <b>FDN (%)</b>                       | 61,86    | 6,89     | 11,13 | 35,66  | 79,74    |
| <b>FDA (%)</b>                       | 34,9     | 4,21     | 12,07 | 16,9   | 46,62    |
| <b>LDA (%)</b>                       | 5,67     | 1,23     | 21,72 | 1,01   | 8,91     |
| <b>RE</b><br>(l ha <sup>-1</sup> )   | 2.620,06 | 884,47   | 33,76 | 436,30 | 6.225,02 |

N = 2192

Al igual que lo ocurrido con los datos medidos sobre parcelas ([Tabla 3](#)), las variables RMS, LDA y RE presentaron CV altos en los resultados de ensayos de lotes de producción ([Tabla 4](#)). Por otro lado, las variables de calidad DIV, FDN y FDA presentaron CV medios.

Para cada una de las variables medidas sobre los ensayos en lotes, el porcentaje de variación fue mayor que los alcanzados en parcelas. Esto sería lo esperado debido a que los ensayos de lotes no incluyeron condiciones experimentales controladas sino por el contrario cada lote representó condiciones edáficas y de manejo particulares e incluso híbridos diferentes.

Por otro lado, para todas las variables, los valores promedios alcanzados fueron similares a los obtenidos en parcelas.



**5.2 ANVAS y Contrastes**

VARIABLES DE CALIDAD Y RENDIMIENTO PARA DATOS DE PARCELAS EXPERIMENTALES EN EL PERIODO 1999 – 2014.

**Tabla 5:** Medias, desvío estándar y contrastes usando DGC por año de variables de rendimiento (materia seca, RMS (kg ha<sup>-1</sup>) y etanol, RE (l ha<sup>-1</sup>) y calidad (digestibilidad *in vitro*, DIV (%); fibra detergente neutro, FDN (%); fibra detergente ácido, FDA (%) y lignina detergente ácido, LDA (%)) en parcelas experimentales durante el periodo 1999 – 2014.

| <b>Año</b>  | <b>N° híbridos</b> | <b>RMS<br/>kg ha<sup>-1</sup></b> | <b>DIV<br/>%</b> | <b>FDN<br/>%</b> | <b>FDA<br/>%</b> | <b>LDA<br/>%</b> | <b>RE<br/>l ha<sup>-1</sup></b> |
|-------------|--------------------|-----------------------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|---------------------------------|
| <b>1999</b> | 31                 | 5.966,9 ± 998,1 G                 | 45,94 ± 2,02 D   | 61,07 ± 2,19 D   | 33,27 ± 1,49 E   | 4,24 ± 0,37 G    | 1.750,85 ± 271,03 G             |
| <b>2000</b> | 31                 | 14.100 ± 2.411 A                  | 45,69 ± 1,24 D   | 62,28 ± 1,4 C    | 33,24 ± 0,98 E   | 5,99 ± 0,31 D    | 4.108,14 ± 699,49 A             |
| <b>2001</b> | 34                 | 7.891,2 ± 1.052,4 D               | 46,77 ± 4,89 D   | 62,56 ± 3,19 C   | 32,68 ± 4,03 E   | 5,37 ± 0,81 E    | 2.332 ± 308,66 E                |
| <b>2002</b> | 38                 | 8.831,1 ± 1.381,2 C               | 38,31 ± 1,61 G   | 67,12 ± 1,54 A   | 40,13 ± 1,64 A   | 6,41 ± 0,38 C    | 2.771,87 ± 413,01 C             |
| <b>2003</b> | 34                 | 7.054,6 ± 1.006,1 E               | 43,62 ± 2,35 F   | 61,73 ± 2,4 C    | 34,64 ± 1,8 D    | 5,9 ± 0,38 D     | 2.036,3 ± 279,66 F              |
| <b>2004</b> | 49                 | 8.744,9 ± 1.615,1 C               | 43,43 ± 2,17 F   | 62,3 ± 2,44 C    | 35,22 ± 1,86 D   | 5,94 ± 0,44 D    | 2.540,16 ± 415,67 D             |
| <b>2005</b> | 36                 | 6.201,9 ± 1.057,3 G               | 43,07 ± 1,5 F    | 63,12 ± 1,86 C   | 34,88 ± 0,96 D   | 5,4 ± 0,34 E     | 1.847,77 ± 285,67 G             |
| <b>2006</b> | 60                 | 8.086,5 ± 1.291,3 D               | 45,96 ± 2,37 D   | 64,38 ± 2,02 B   | 38,47 ± 1,78 B   | 7,22 ± 0,34 A    | 2.387,90 ± 354,81 E             |
| <b>2007</b> | 46                 | 5.600,2 ± 828 H                   | 44,43 ± 1,73 E   | 62,4 ± 1,82 C    | 34,03 ± 1,45 D   | 5,32 ± 0,42 E    | 1.654,76 ± 246,54 H             |
| <b>2008</b> | 48                 | 6.185,7 ± 880,9 G                 | 49,96 ± 3,36 B   | 59,49 ± 3,7 E    | 31,24 ± 2,57 F   | 4,08 ± 0,57 G    | 1.768,61 ± 229,23 G             |
| <b>2009</b> | 52                 | 10.115,2 ± 1.653,3 B              | 37,73 ± 2,54 G   | 59,79 ± 1,73 E   | 36,27 ± 1,79 C   | 6,35 ± 0,49 C    | 2.791,01 ± 412,49 C             |
| <b>2010</b> | 52                 | 6.569,8 ± 821,2 F                 | 44,92 ± 2,43 E   | 64,75 ± 2,56 B   | 34,25 ± 1,76 D   | 4,97 ± 0,52 F    | 2.029,13 ± 227,22 F             |
| <b>2011</b> | 43                 | 9.846,5 ± 1.467,1 B               | 47,95 ± 1,72 C   | 60,72 ± 1,8 D    | 32,5 ± 1,32 E    | 4,72 ± 0,55 F    | 2.849,82 ± 404,24 C             |
| <b>2012</b> | 44                 | 10.487,5 ± 1.576,5 B              | 51,03 ± 2,4 A    | 47,74 ± 4,63 F   | 35,2 ± 1,75 D    | 6,67 ± 0,32 B    | 2.221,51 ± 358,27 E             |
| <b>2013</b> | 30                 | 9.660,2 ± 1.290,7 B               | 52,09 ± 1,85 A   | 66,03 ± 2,01 A   | 34,61 ± 1,31 D   | 5,23 ± 0,39 E    | 3.034,31 ± 366,72 B             |
| <b>2014</b> | 48                 | 9.284,2 ± 1.593,9 C               | 51,46 ± 2,29 A   | 66,71 ± 2,62 A   | 34,36 ± 1,76 D   | 4,92 ± 0,5 F     | 2.962,11 ± 466,63 B             |

Letras distintas indican diferencias significativas entre años.

Debido a la falta de homocedasticidad, se aplicaron modelos lineales mixtos para todas las variables. En todos los casos el diagnóstico de los modelos mejoró al aplicarse “varIdent”, disminuyendo así los estimadores AIC y BIC (ver tabla en anexo).

Existieron diferencias significativas para todas las variables estudiadas (ANVA no presentado,  $p < 0,01$ ). La [tabla 5](#) muestra las medias, los desvíos estándar y contrastes (test DGC) por año.

En el año 2000 se obtuvo el mayor promedio de RMS diferenciándose marcadamente de los años restantes, con un valor de  $14.100 \pm 2.411 \text{ kg ha}^{-1}$ . Como se observa en la [tabla 1](#), este año se correspondió con una campaña húmeda (812,6 mm.). En orden descendente le continuaron los años 2012, 2009, 2011, 2013, con rendimientos promedios desde  $10.487 \pm 1.576,5$  a  $9.660 \pm 1.290,7 \text{ kg ha}^{-1}$ , no existiendo diferencias significativas entre ellos. Por otro lado, el menor promedio de RMS se obtuvo en el año 2007, siendo igual a  $5.600,2 \text{ kg ha}^{-1}$  y diferenciándose significativamente de los otros grupos ([Tabla 5](#)).

En los últimos tres años de estudio, 2012, 2013 y 2014, se registraron los mayores promedios de DIV, con porcentajes iguales a 51,03, 52,09 y 51,46, respectivamente, diferenciándose significativamente del resto de los años. En el otro extremo, los años 2002 y 2009 se diferenciaron por registrar los menores valores promedio de DIV, siendo iguales a 38,31 y 37,73 %, respectivamente.

Con respecto a las variables de fibra, en el año 2002 se obtuvo la mayor media para la FDA (igual a 40,13 %) diferenciándose del resto de los años; también en el mismo año y sumados los últimos dos años evaluados, 2014 y 2013, se diferenciaron los mayores promedios de FDN; iguales a 67,12, 66,71 y 66,03 %, respectivamente.

Mientras que en el año 2008 se manifestaron los menores porcentajes de FDA y LDA, iguales a 31,24 y 4,08 %, respectivamente, no teniendo este último diferencias significativas con el bajo promedio del año 1999 (4,24 %).

El año 2012 registró el menor porcentaje promedio de FDN y con el mayor desvío estándar, igual a  $47,74 \pm 4,63 \%$ ; estando muy por debajo de la media general de los 16 años igual a 61,96 % ([Tabla 3](#)); éste ciclo contó con abundantes precipitaciones durante septiembre y octubre de 2012, lo cual condicionó la siembra en el mes de diciembre, consecuentemente, la cosecha se realizó a fines de marzo de 2013 ([Tabla 1](#)).

El año 2006 presentó el mayor valor de LDA, igual a 7,22 %, diferenciándose del resto de los años.

Para el año 2007 se obtuvo el menor valor RE promedio ( $1.654,76 \text{ l. ha}^{-1}$ ). Contrariamente, el promedio de RE más alto se obtuvo para el año 2000 (igual a  $4.108,14 \text{ l. ha}^{-1}$ ) diferenciándose del resto de los años, y coincidiendo el año con el de mayor promedio de RMS. Le siguieron en orden descendente los años 2013 y 2014 con valores promedios de 3.034,31 y 2.962,11  $\text{l. ha}^{-1}$ , respectivamente. Coincidentemente estos dos últimos años tuvieron los más altos promedios de DIV y FDN.

**Tabla 6:** Medias, desvío estándar y contrastes usando DGC por año de variables de rendimiento (materia seca, RMS (kg ha<sup>-1</sup>) y etanol, RE (l ha<sup>-1</sup>) y calidad (digestibilidad *in vitro*, DIV (%); fibra detergente neutro, FDN (%); fibra detergente ácido, FDA (%) y lignina detergente ácido, LDA (%) en lotes de producción durante el periodo 1999 – 2014.

| Año  | N° híbridos | RMS kg ha <sup>-1</sup> | DIV %          | FDN %          | FDA %          | LDA %         | RE l ha <sup>-1</sup> |
|------|-------------|-------------------------|----------------|----------------|----------------|---------------|-----------------------|
| 1999 | 128         | 7.505,1 ± 2.280,1 E     | 45,72 ± 3,28 E | 57,61 ± 7,34 G | 34,1 ± 2,37 E  | 5,04 ± 0,74 G | 2.011,95 ± 593,06 G   |
| 2000 | 110         | 9.223 ± 2.426,6 C       | 43,05 ± 3,97 G | 63,37 ± 3,06 D | 35,43 ± 2,94 D | 6,01 ± 0,81 E | 2.734,02 ± 699,71 D   |
| 2001 | 91          | 10.292,4 ± 2.661,8 B    | 47,91 ± 8,93 D | 61,73 ± 6,62 E | 31,63 ± 7,81 G | 5 ± 1,67 G    | 3.005,89 ± 749,16 C   |
| 2002 | 149         | 10.167,2 ± 3.441,3 B    | 44,19 ± 2,89 F | 62,29 ± 2,95 E | 34,72 ± 2,01 E | 5,85 ± 0,83 E | 2.946,28 ± 933,83 C   |
| 2003 | 125         | 8.631,8 ± 2.384,3 D     | 47,27 ± 3,98 D | 59,43 ± 4,14 F | 32,23 ± 2,95 G | 5,64 ± 0,61 F | 2.381,28 ± 611,26 E   |
| 2004 | 120         | 7.786,2 ± 2.094,5 E     | 41,44 ± 2,92 H | 44,04 ± 2,95 H | 36,2 ± 2,72 D  | 6,18 ± 0,52 D | 1.539,86 ± 476,57 I   |
| 2005 | 135         | 9.291,8 ± 2.591,8 C     | 39,27 ± 4,2 I  | 63,12 ± 3,5 D  | 37,68 ± 3,27 B | 7,33 ± 0,99 A | 2.668,01 ± 712,70 D   |
| 2006 | 174         | 8.109,2 ± 1.591,6 E     | 41,41 ± 4,08 H | 63,32 ± 3,94 D | 37,13 ± 3,17 C | 6,7 ± 0,84 B  | 2.374,79 ± 417,54 E   |
| 2007 | 182         | 7.233,9 ± 1.654,3 F     | 41,4 ± 3,19 H  | 64,87 ± 2,8 C  | 36,68 ± 2,63 C | 6,01 ± 0,63 E | 2.204,95 ± 524,24 F   |
| 2008 | 136         | 6.484,3 ± 1.618,6 G     | 46,31 ± 4,68 E | 60,28 ± 4,39 F | 33,18 ± 3,48 F | 5,44 ± 0,85 F | 1.819,03 ± 384,08 H   |
| 2009 | 198         | 7.777,4 ± 2.112,9 E     | 39,04 ± 3,96 I | 66,19 ± 2,58 B | 38,77 ± 3,07 A | 6,48 ± 0,86 C | 2.399,50 ± 638,64 E   |
| 2010 | 125         | 9.778,7 ± 3.033,4 C     | 48,82 ± 3,07 C | 59,69 ± 3,04 F | 30,94 ± 2,13 H | 4,2 ± 0,95 I  | 2.789,94 ± 819,37 D   |
| 2011 | 124         | 11.663,3 ± 2.857,1 A    | 50,62 ± 6,3 B  | 56,86 ± 5,44 G | 29,97 ± 4,93 H | 4,56 ± 1,39 H | 3.194,69 ± 982,25 B   |
| 2012 | 140         | 10.522,3 ± 2.944,5 B    | 51,63 ± 4,75 A | 66,32 ± 6,05 B | 34,13 ± 3,66 E | 4,16 ± 0,73 I | 3.362,07 ± 937,10 B   |
| 2013 | 105         | 11.368,2 ± 2.065,6 A    | 49,22 ± 5,1 C  | 67,87 ± 5,56 A | 35,89 ± 3,87 D | 5,5 ± 0,94 F  | 3.660,39 ± 679,10 A   |
| 2014 | 150         | 10.403,7 ± 2.540,4 B    | 50,13 ± 3,57 B | 67,14 ± 4,31 A | 35,2 ± 2,68 D  | 5,58 ± 0,7 F  | 3.285,51 ± 677,98 B   |

Letras distintas indican diferencias significativas entre años.

La [tabla 6](#) muestra las medias, desvíos estándar y contrastes para las variables de calidad y rendimiento obtenidas de datos medidos sobre lotes de producción, durante el periodo 1999 – 2014.

Existieron diferencias significativas entre años para las medias de todas las variables evaluadas ( $p < 0,01$ ) (datos de ANVA no presentados).

En los años 2011 y 2013 se obtuvieron los mayores promedios de RMS, diferenciándose de los años restantes, con valores de 11.663,3 y 11.368,2 kg ha<sup>-1</sup>, respectivamente. Señalamos que; estos fueron menores al máximo obtenido en parcelas ([Tabla 5](#)). En orden descendente le continuaron los años 2012, 2014, 2001 y 2002, con rendimientos promedios entre 10.522,3 y 10.167,2 kg ha<sup>-1</sup>, no existiendo diferencias significativas entre ellos.

Por otro lado, el menor RMS promedio se obtuvo en el año 2008 con un valor de 6.484,3 kg ha<sup>-1</sup> y fue superior al mínimo obtenido en parcelas en el año 2007 (5.600,2 kg ha<sup>-1</sup>, [Tabla 5](#)). El registro de precipitaciones para dicha campaña fue bajo, desde 270,6 (Olavarría) a 466,4 mm (Virrey del Pino) en el ciclo 2008 - 2009 ([Tabla 2](#)).

Los porcentajes promedio de DIV, al igual que en el conjunto de datos de parcelas ([Tabla 5](#)), tuvieron en los últimos años de estudio los valores más altos; el porcentaje más alto en el año 2012, igual a 51,63 %, muy similar al obtenido en parcelas, pero con mayor dispersión debido a la mayor cantidad de datos involucrados ([Tabla 5](#)). En orden descendente le siguieron los años 2011 y 2014 con porcentajes promedios de 50,62 y 50,13, respectivamente. Por otro lado, los años 2005 y 2009 se diferenciaron del resto por registrar los menores valores de DIV promedio, siendo 39,27 y 39,04 %, respectivamente, a su vez superiores a los promedios más bajos informados en parcelas ([Tabla 5](#)).

Para FDN, al igual que en parcelas ([Tabla 5](#)), los valores máximos se dieron en los años 2013 y 2014, con promedios de 67,87 y 67,14 %, respectivamente, diferenciándose del resto de los años. Mientras que en el 2004 se manifestó el menor porcentaje, igual a 44,04 %; 3,7 puntos menos que el promedio mínimo de parcelas.

FDA fue alto en el 2009 con promedio de 38,77 % diferenciándose del resto de los años y a su vez menor al más alto de parcelas (año 2002, [Tabla 5](#)); y en el otro extremo, los años 2010 y 2011 registraron los menores % promedios, iguales a 30,94 y 29,97 %, respectivamente.

En el año 2010 también se diferenció el más bajo promedio de LDA, junto con el 2012, siendo 4,2 y 4,16 %, respectivamente, similares al menor obtenido en parcelas. Y en el 2005 se presentó el mayor valor promedio, igual a 7,33 % diferenciándose del resto de los años, también semejante al mayor informado en parcelas ([Tabla 5](#)).

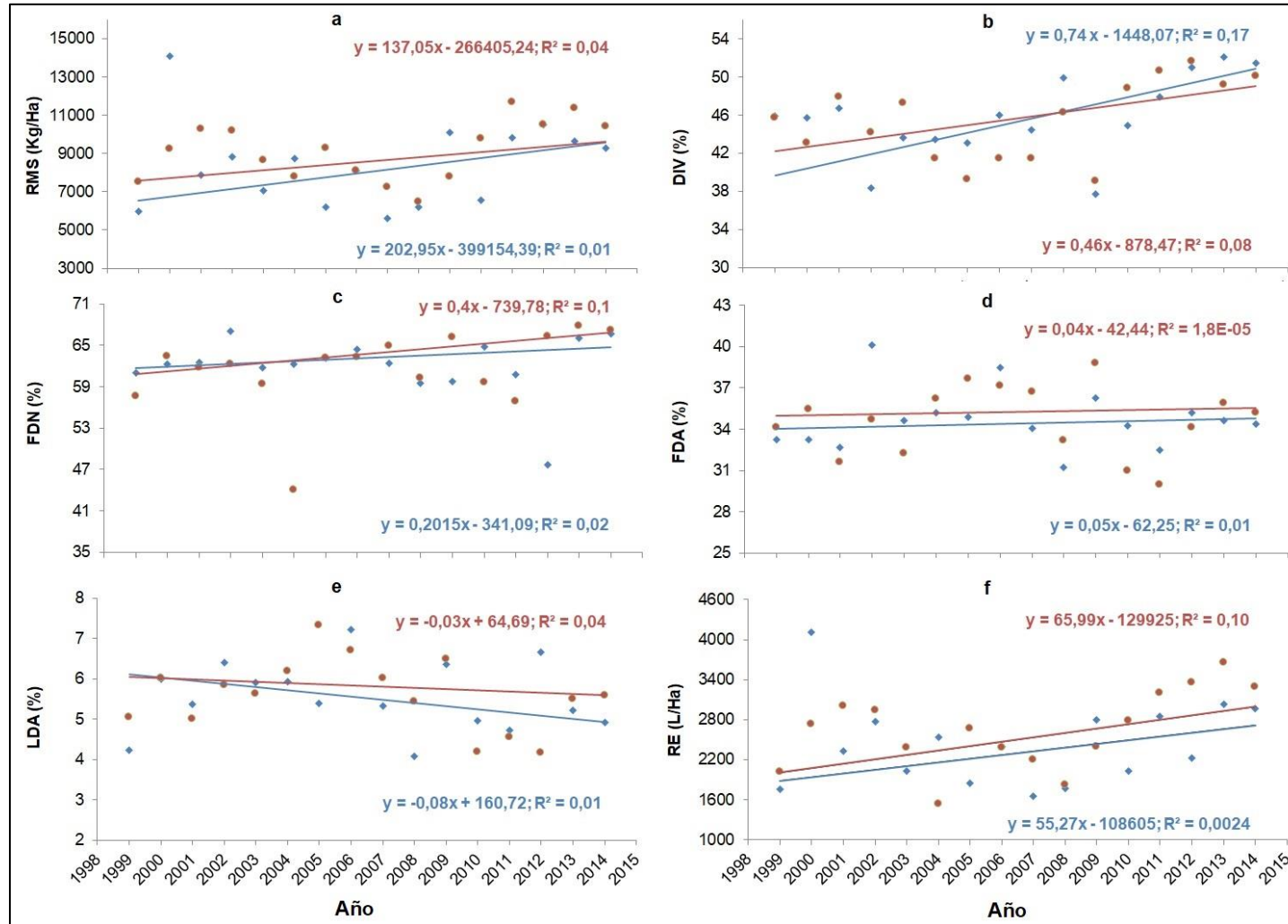
Coincidiendo con RMS y DIV, el RE tuvo los mayores valores promedios en los últimos 4 años de estudio. Se diferenció el 2013 con el más alto (3.660,39 l ha<sup>-1</sup>); le siguieron en orden descendente los años 2012, 2014 y 2011 con valores promedios similares de 3.362,07; 3.285,51 y 3.194,69 l ha<sup>-1</sup>, respectivamente, no existiendo diferencias entre ellos. Mientras que en el año 2004 se obtuvo la menor media, igual a 1.539,86 l ha<sup>-1</sup>.

### **5.3 Regresiones**

Debido a la falta de homocedasticidad, se aplicaron modelos lineales mixtos para todas las variables. En todos los casos el diagnóstico de los modelos mejoró al aplicarse “varIdent”, disminuyendo así los estimadores AIC y BIC (ver tabla en anexo).

La [Figura 5](#) muestra las regresiones ajustando modelos mixtos para cada variable, para datos de parcelas experimentales y lotes de producción en el período 1999-2014.

Evolución de la aptitud forrajera en híbridos de maíz. Su relación con la producción de etanol.



**Figura 5:** Regresiones ajustando modelos mixtos para: a-rendimiento de materia seca (RMS) ( $\text{kg ha}^{-1}$ ), b-digestibilidad *in vitro* (DIV) (%), c-fibra detergente neutro (FDN) (%), d-fibra detergente ácido (FDA) (%), e-lignina detergente ácido (LDA) (%) y f-rendimiento de etanol (RE) ( $\text{l ha}^{-1}$ ), por año, en parcelas experimentales (rombos celestes) y lotes de producción (círculos naranjas), para el período 1999 – 2014.

Tanto en ensayos de parcelas como en lotes, todas las regresiones resultaron estadísticamente significativas: RMS, DIV, FDN, LDA, RE ( $p < 0,0001$ ) y FDA ( $p = 0,0021$ , parcelas y  $p = 0,01$ , lotes).

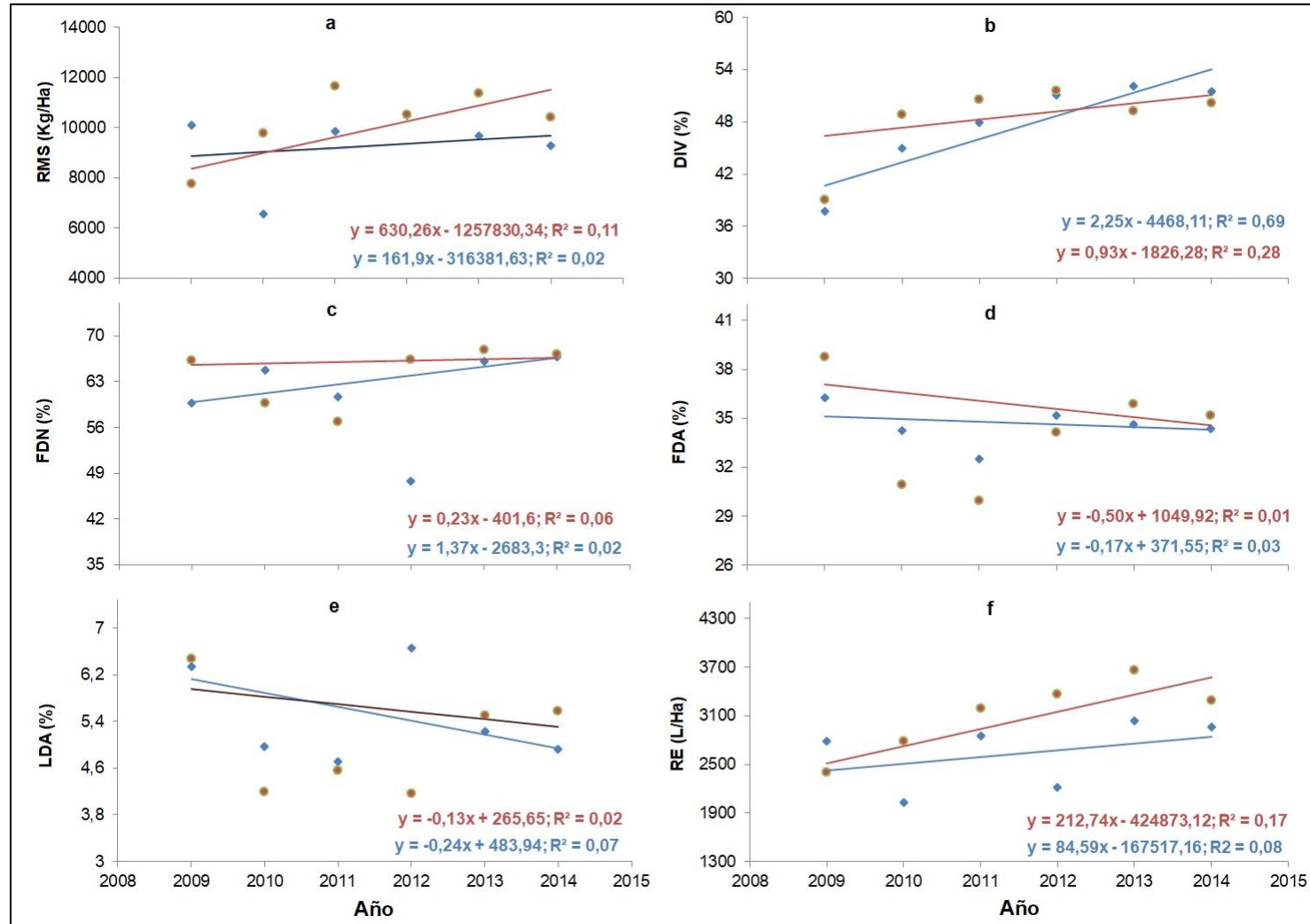
Aunque en todos los casos, las pendientes para las variables RMS, DIV, FDN, FDA y RE fueron leves, se observó un aumento sostenido (pendientes positivas). Excepto LDA que mostró una pendiente negativa (disminución a través del tiempo).

Por otro lado, los  $R^2$  pequeños indicarían un mal ajuste de los datos a la recta de regresión. Esto es lo esperable ya que la evaluación de numerosos genotipos ensayados en diferentes condiciones ambientales y experimentales producen grandes desvíos. Así, por ejemplo, cuando se utilizan diferentes sitios de evaluación (localidades), se estaría variando el tipo de suelo, la disponibilidad de agua y nutrientes, las pautas de manejo (fechas de siembras y modo), etc.

A partir del año 2009 se incorporaron en las evaluaciones ciertos híbridos diferenciados por poseer mayor calidad nutritiva que los maíces tradicionales. Explicada como una alta digestibilidad y mayor energía metabolizable. Por lo tanto, con el objetivo de poder observar si hubo cambios en la calidad y/o rendimiento de biomasa a partir del ingreso de dichos híbridos al mercado nacional, se procedió a realizar las regresiones de todas las variables considerando los últimos 7 años de estudio (2009 - 2014).

La [figura 6](#) muestra regresiones ajustando modelos mixtos para cada variable, para datos de parcelas experimentales y lotes de producción, en el período 2009-2014.

Evolución de la aptitud forrajera en híbridos de maíz. Su relación con la producción de etanol.



**Figura 6:** Regresiones ajustando modelos mixtos para: a-rendimiento de materia seca (RMS) ( $\text{kg ha}^{-1}$ ), b-digestibilidad *in vitro* (DIV) (%), c-fibra detergente neutro (FDN) (%), d-fibra detergente ácido (FDA) (%), e-lignina detergente ácido (LDA) (%) y f-rendimiento de etanol (RE) ( $\text{l ha}^{-1}$ ), por año, en parcelas experimentales (rombos celestes) y lotes de producción (círculos naranjas), en el período 2009 – 2014.



Al considerar sólo los últimos 6 años de evaluación, tanto en ensayos de parcelas como en lotes, todas las regresiones resultaron estadísticamente significativas ( $p < 0,0001$ ). Además, en la mayoría de los casos (RMS, DIV, FDA y RE, en ambos ensayos y LDA en parcelas) se obtuvieron mayores ajustes ( $R^2$  superiores) a los obtenidos analizando el periodo completo de estudio (Figura 5). Mayores pendientes en RMS, DIV y RE, en ambos ensayos y FDN en parcelas, fueron encontradas en este período (2009 – 2014) que las registradas con la totalidad de los años (Figura 5). Por otro lado, menores pendientes se observaron para las variables FDN en lotes, y para LDA y FDA, en ambos ensayos, siendo las dos últimas pendientes negativas.

Es importante señalar, que sólo la variable DIV mantuvo una alta relación con los años ( $R^2 = 69\%$ ) al utilizar los datos de parcelas. La estimación de  $\beta_1$  indicaría que hubo un aumento promedio de la digestibilidad *in vitro* en la fracción caña + hojas igual a  $2,25\%$  año<sup>-1</sup> en dicho período, 2009 - 2014.

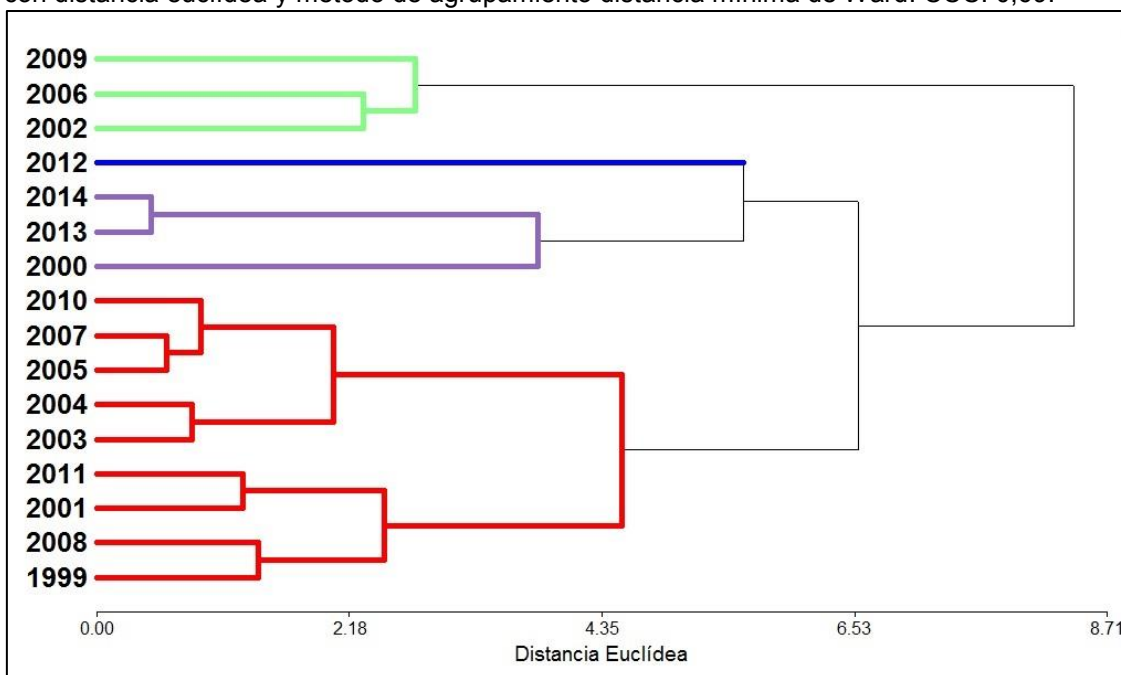
Por otra parte, para ensayos en lotes de producción se obtuvo un menor coeficiente de determinación, igual a  $28\%$  y un  $\beta_1$  de  $0,93\%$  año<sup>-1</sup> para el mismo período (2009 – 2014). Es de esperar que en los resultados de lotes los desvíos de la regresión sean mayores debido a que dichos datos fueron más influenciados por el ambiente que los de parcelas.

#### 5.4 Análisis Multivariado

##### 5.4.1 Agrupamiento de años – parcelas experimentales

Análisis de clústers para datos de parcelas experimentales utilizando el año como variable clasificatoria.

**Figura 7:** Fenograma clasificando los años para datos de parcelas experimentales utilizando la variable de rendimiento (materia seca, RMS) y las de calidad (digestibilidad *in vitro*, DIV; fibra detergente neutro, FDN; fibra detergente ácido, FDA y lignina detergente ácido, LDA) construido con distancia euclídea y método de agrupamiento distancia mínima de Ward. CCC: 0,69.



El fenograma de la [figura 7](#), fue el que alcanzó el mayor valor para el coeficiente de correlación cofenética (CCC: 0,69). Se construyó utilizando la distancia euclídea y la distancia mínima de Ward como técnica de agrupamiento. Este identificó cuatro grupos: el clúster 1 (rojo) agrupó los años 1999, 2001, 2003, 2004, 2005, 2007, 2008, 2010 y 2011, clúster 2 (azul) el año 2012, clúster 3 (violeta) los años 2000, 2013 y 2014, y el clúster 4 (verde) los años 2002, 2006 y 2009 ([Figura 7](#)). Una vez obtenido el fenograma se aplicó un análisis de varianza utilizando modelos lineales mixtos para probar diferencias entre clusters y se realizaron comparaciones entre ellos usando el Test LSD al 5% de probabilidad ([Tabla 7](#)).

**Tabla 7:** Comparaciones entre medias ( $\pm$  error estándar) de los clusters de la figura 6 para las variables: rendimiento de materia seca (RMS) ( $\text{kg ha}^{-1}$ ), digestibilidad *in vitro* (DIV) (%), fibra detergente neutro (FDN) (%), fibra detergente ácido (FDA) (%), lignina detergente ácido (LDA) (%) y rendimiento de etanol (RE) ( $\text{l ha}^{-1}$ ). LSD ( $p < 0,05$ ).

| Variables                             | Clúster 1                 | Clúster 2                   | Clúster 3                   | Clúster 4                  |
|---------------------------------------|---------------------------|-----------------------------|-----------------------------|----------------------------|
| <b>RMS</b><br>( $\text{kg ha}^{-1}$ ) | 7.143,31 C<br>$\pm 91,47$ | 10.487,52 A<br>$\pm 237,67$ | 10.757,32 A<br>$\pm 265,32$ | 8.978,42 B<br>$\pm 137,76$ |
| <b>DIV (%)</b>                        | 45,62 C<br>$\pm 0,18$     | 51,03 A<br>$\pm 0,36$       | 49,99 B<br>$\pm 0,32$       | 41,17 D<br>$\pm 0,37$      |
| <b>FDN (%)</b>                        | 62,06 C<br>$\pm 0,15$     | 47,74 D<br>$\pm 0,70$       | 65,26 A<br>$\pm 0,28$       | 63,48 B<br>$\pm 0,28$      |
| <b>FDA (%)</b>                        | 33,63 D<br>$\pm 0,12$     | 35,20 B<br>$\pm 0,26$       | 34,11 C<br>$\pm 0,15$       | 38,13 A<br>$\pm 0,19$      |
| <b>LDA (%)</b>                        | 5,10 C<br>$\pm 0,04$      | 6,68 A<br>$\pm 0,05$        | 5,31 B<br>$\pm 0,06$        | 6,71 A<br>$\pm 0,05$       |
| <b>RE</b><br>( $\text{l ha}^{-1}$ )   | 2.098,81 D<br>$\pm 25,49$ | 2.221,51 C<br>$\pm 55,52$   | 3.307,92 A<br>$\pm 69,37$   | 2.624,91 B<br>$\pm 35,42$  |

Letras distintas indican diferencias significativas entre clusters.

El clúster 1 presentó valores bajos para la mayoría de las variables, específicamente los promedios más bajos de RMS, FDA y RE, diferenciándose del resto de los clusters.

El clúster 2 consistió en un único año (2012) y se diferenció por presentar el menor valor promedio de FDN y los promedios más altos para RMS (junto al cluster 3), DIV y LDA (junto al cluster 4). La mayoría de estos contrastes coincidieron con las diferencias encontradas al comparar todos los años en conjunto, anteriormente desarrollado ([Tabla 5](#)).

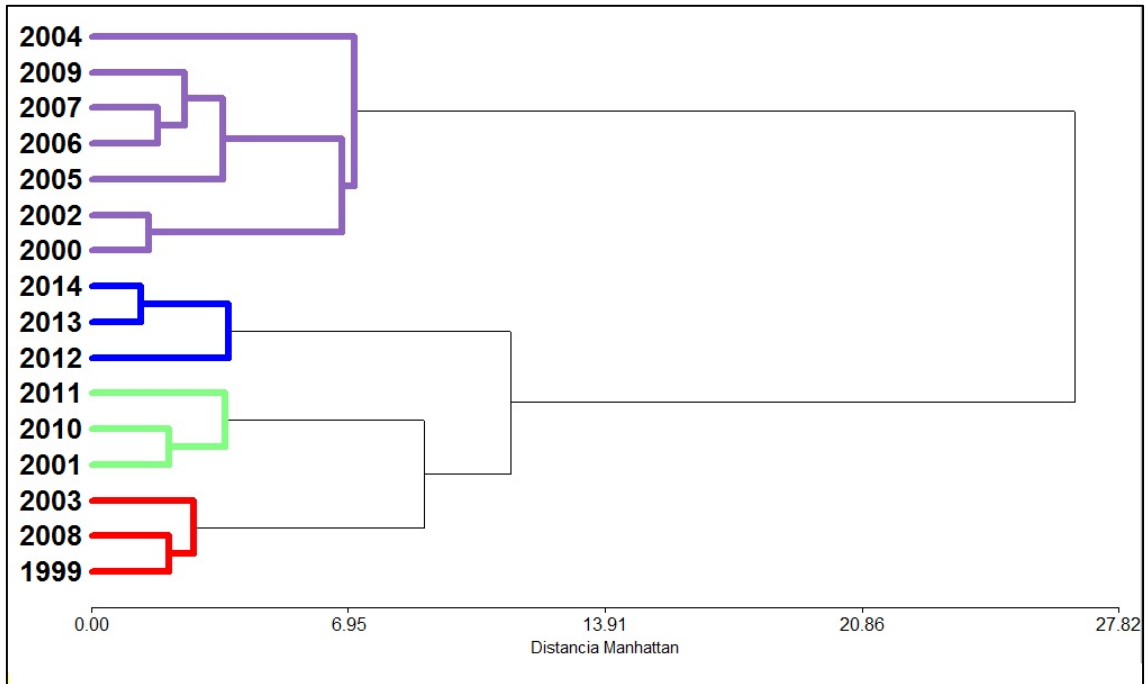
El clúster 3 presentó los valores más altos de RMS (no existiendo diferencias con el cluster 2), FDN y RE, diferenciándose del resto de clusters.

Por último, el clúster 4 presentó el menor valor promedio de DIV y los mayores valores de FDA y LDA.

#### 5.4.2 Agrupamiento de años - lotes

Análisis de clústers para datos de lotes de producción utilizando el año como variable clasificatoria.

**Figura 8:** Fenograma clasificando los años para datos de lotes de producción utilizando la variable de rendimiento (materia seca, RMS) y las de calidad (digestibilidad *in vitro*, DIV; fibra detergente neutro, FDN; fibra detergente ácido, FDA y lignina detergente ácido, LDA) construido con manhattan y método de agrupamiento distancia mínima de Ward. CCC: 0,63.



El fenograma que alcanzó mayor CCC (0,63) fue el construido utilizando distancia manhattan y método de agrupamiento distancia mínima de Ward. Este identificó cuatro grupos: el clúster 1 (rojo) agrupó los años 1999, 2003 y 2008, clúster 2 (azul) los años 2012, 2013 y 2014, clúster 3 (violeta) años 2000, 2002, 2004, 2005, 2006, 2007 y 2009; y el clúster 4 (verde) los años 2001, 2010 y 2011. Luego del ANVA estimado con modelos lineales mixtos se aplicaron contrastes, para probar diferencias entre clusters (Test LSD al 5%, [Tabla 8](#)).

**Tabla 8:** Comparaciones entre medias ( $\pm$  error estándar) de los clusters de la figura 7 para las variables: rendimiento de materia seca (RMS) ( $\text{kg ha}^{-1}$ ), digestibilidad *in vitro* (DIV) (%), fibra detergente neutro (FDN) (%), fibra detergente ácido (FDA) (%), lignina detergente ácido (LDA) (%) y rendimiento de etanol (RE) ( $\text{l ha}^{-1}$ ). LSD ( $p < 0,05$ ).

| Variables                             | Clúster 1                  | Clúster 2                   | Clúster 3                 | Clúster 4                   |
|---------------------------------------|----------------------------|-----------------------------|---------------------------|-----------------------------|
| <b>RMS</b><br>( $\text{kg ha}^{-1}$ ) | 7.510,26 C<br>$\pm 115,67$ | 10.702,11 A<br>$\pm 131,11$ | 8.413,56 B<br>$\pm 76,45$ | 10.603,52 A<br>$\pm 161,76$ |
| <b>DIV (%)</b>                        | 46,42 C<br>$\pm 0,21$      | 50,42 A<br>$\pm 0,23$       | 41,26 D<br>$\pm 0,12$     | 49,23 B<br>$\pm 0,34$       |
| <b>FDN (%)</b>                        | 59,13 C<br>$\pm 0,28$      | 67,05 A<br>$\pm 0,27$       | 61,79 B<br>$\pm 0,22$     | 59,20 C<br>$\pm 0,29$       |
| <b>FDA (%)</b>                        | 33,18 C<br>$\pm 0,16$      | 35,00 B<br>$\pm 0,17$       | 36,81 A<br>$\pm 0,10$     | 30,77 D<br>$\pm 0,28$       |
| <b>LDA (%)</b>                        | 5,37 B<br>$\pm 0,04$       | 5,05 C<br>$\pm 0,05$        | 6,37 A<br>$\pm 0,03$      | 4,55 D<br>$\pm 0,07$        |
| <b>RE</b><br>( $\text{l ha}^{-1}$ )   | 2.063,18 D<br>$\pm 29,57$  | 3.412,30 A<br>$\pm 39,90$   | 2.410,41 C<br>$\pm 23,10$ | 2.995,35 B<br>$\pm 47,74$   |

Letras distintas indican diferencias significativas entre clusters.

El clúster 1 se diferenció del resto por presentar los valores promedios más bajos para RMS, FDN (junto al cluster 4) y RE.

El clúster 2 agrupó los últimos 3 años y fue el más alejado del resto, diferenciándose por presentar altos valores en la mayoría de las variables, como RMS (no existiendo diferencias con el cluster 4), DIV, FDN y RE.

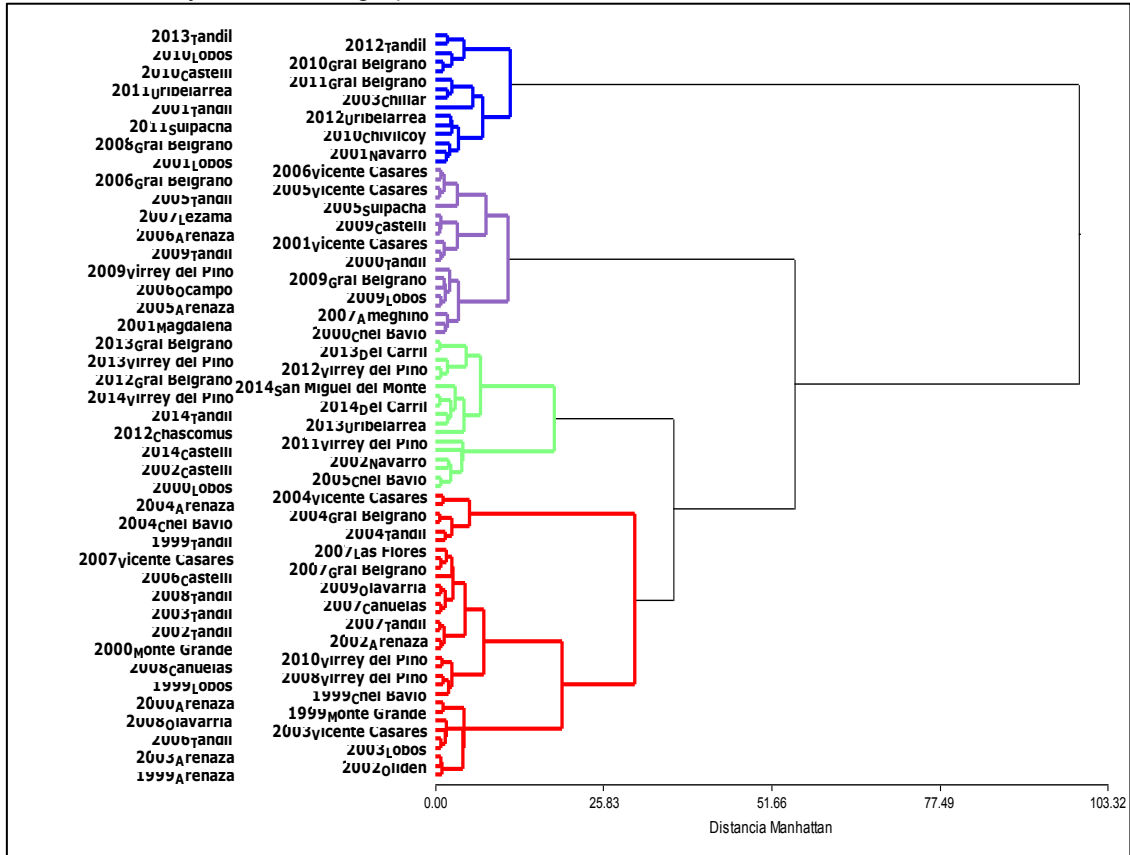
El clúster 3 presentó el valor promedio más bajo de DIV; y los más altos de FDA y LDA.

Y por su parte, el clúster 4 presentó alto promedio de RMS y bajos promedios en FDN, FDA y LDA.

#### 5.4.3 Agrupamiento de ambientes – lotes

Para poder cumplir con el segundo objetivo de esta tesis, se realizó un análisis de conglomerados sobre la base de datos de lotes de producción, considerando la variable ambiente como la combinación año x localidad.

**Figura 9:** Fenograma clasificando ambientes para datos de lotes de producción utilizando la variable de rendimiento (materia seca, RMS) y las de calidad (digestibilidad *in vitro*, DIV; fibra detergente neutro, FDN; fibra detergente ácido, FDA y lignina detergente ácido, LDA) construido con manhattan y método de agrupamiento distancia mínima de Ward. CCC: 0,69.



El fenograma que alcanzó el mayor valor de coeficiente de correlación cofenética (CCC: 0,69) para clasificar ambientes, fue el contruido utilizando distancia manhattan y método de agrupamiento distancia mínima de Ward (Figura 9). Se identificaron cuatro grupos. El clúster azul agrupó a la mayoría de las localidades que se ensayaron en las campañas 2001, 2010 y 2011. Las localidades fueron Tandil, General Belgrano, Castelli, Uribelarrea, Suipacha, Lobos, Chivilcoy y Navarro. Con excepción, no se clasificaron en este grupo las campañas 2010 y 2011 de Virrey del Pino y 2001 de Vicente Casares y Magdalena. Además, este cluster reunió 6 campañas más: 2003 de Chillar, 2008 de General Belgrano, 2012 de Tandil y Uribelarrea y 2013 de Tandil.

El cluster violeta agrupó, en general, localidades en donde se realizaron ensayos entre los años 2005 y 2009, por ejemplo, Vicente Casares, Manuel Ocampo, General Belgrano, Arenaza, Ameghino, Tandil, Lezama, Virrey del Pino, Castelli, Lobos y Suipacha. Y también clasificó algunas localidades de las campañas 2000, como Coronel Bavio y Tandil; y del 2001, Magdalena y Vicente Casares.

Por su parte el cluster verde, agrupó a la mayoría de las localidades evaluadas en los últimos 3 años, todas las de 2014, todas las de 2013 excepto una y todas las de 2012 exceptuando dos, incluyendo a: Tandil, Castelli, General Belgrano, Del Carril, Uribelarrea, Virrey

del Pino, Chascomús y San Miguel del Monte. Además, también reunió a Virrey del Pino del 2011, Coronel Bavio del 2005, Navarro y Castelli del 2002 y Lobos del 2000.

Por último, el cluster rojo clasificó al mayor número de ambientes, integrando una gran variedad de años y localidades, como todas las ensayadas en el año 1999 y 2004, la mayoría del 2002, 2003, 2007 y 2008, como, por ejemplo: General Belgrano, Tandil, Lobos, Arenaza, Monte Grande, Vicente Casares, coronel Bavio, Cañuelas, Las Flores, Virrey del Pino, Olavarría y Oliden. También agrupó 2 localidades del 2000 (Arenaza y Monte Grande), 2 del 2006 (Tandil y Castelli), una de 2009 (Olavarría) y una de 2010 (Virrey del Pino).

Luego, para probar diferencias entre estos clusters se aplicó un análisis de varianza y contrastes, utilizando modelos lineales mixtos (Test LSD al 5 %, [tabla 9](#)). Todas las variables presentaron diferencias significativas al 1 % entre clusters (ANVAS no mostrados).

**Tabla 9:** Comparaciones entre medias ( $\pm$  error estándar) de los clusters de la figura 8 para las variables: rendimiento de materia seca (RMS) ( $\text{kg ha}^{-1}$ ), digestibilidad *in vitro* (DIV) (%), fibra detergente neutro (FDN) (%), fibra detergente ácido (FDA) (%), lignina detergente ácido (LDA) (%) y rendimiento de etanol (RE) ( $\text{l ha}^{-1}$ ). LSD ( $p < 0,05$ ).

| Variables                             | Clúster Verde               | Clúster Violeta           | Clúster Azul                | Clúster Rojo              |
|---------------------------------------|-----------------------------|---------------------------|-----------------------------|---------------------------|
| <b>RMS</b><br>( $\text{kg ha}^{-1}$ ) | 11.385,40 A<br>$\pm 139,36$ | 8.705,35 C<br>$\pm 85,39$ | 10.390,41 B<br>$\pm 128,36$ | 7.278,97 D<br>$\pm 69,90$ |
| <b>DIV (%)</b>                        | 47,31 B<br>$\pm 0,20$       | 38,70 D<br>$\pm 0,14$     | 53,10 A<br>$\pm 0,22$       | 44,24 C<br>$\pm 0,12$     |
| <b>FDN (%)</b>                        | 66,48 A<br>$\pm 0,23$       | 65,65 B<br>$\pm 0,14$     | 57,53 D<br>$\pm 0,23$       | 58,90 C<br>$\pm 0,26$     |
| <b>FDA (%)</b>                        | 35,88 B<br>$\pm 0,12$       | 38,76 A<br>$\pm 0,12$     | 28,86 D<br>$\pm 0,17$       | 34,65 C<br>$\pm 0,09$     |
| <b>LDA (%)</b>                        | 5,61 B<br>$\pm 0,04$        | 6,91 A<br>$\pm 0,04$      | 4,05 C<br>$\pm 0,05$        | 5,66 B<br>$\pm 0,03$      |
| <b>RE</b><br>( $\text{l ha}^{-1}$ )   | 3.550,48 A<br>$\pm 39,32$   | 2.638,01 C<br>$\pm 24,78$ | 2.881,99 B<br>$\pm 38,78$   | 1.984,83 D<br>$\pm 19,02$ |

Letras distintas indican diferencias significativas entre clusters.

El clúster verde presentó los valores promedios más altos de RMS, FDN y RE, diferenciándose del resto de los clusters.

El clúster violeta tuvo los valores promedios más altos de FDA y LDA, diferenciándose del resto de los grupos; y el valor más bajo de DIV.

El clúster azul se diferenció del resto por tener el promedio más alto de DIV, y los más bajos porcentajes de fibra: FDN, FDA y LDA.

Por último, el cluster rojo agrupó ambientes con valores intermedios para la mayoría de las variables, pero con los menores valores para RMS y el RE.

## 5.5 Correlaciones

### 5.5.1 Período 1999 – 2014

**Tabla 10:** Correlaciones entre variables de calidad (digestibilidad *in vitro*, DIV; fibra detergente neutro, FDN; fibra detergente ácido, FDA y lignina detergente ácido, LDA) y rendimiento (materia seca, RMS y etanol, RE) para el período 1999 – 2014.

| P/L | DIV     | FDN     | FDA     | LDA     | RMS     | RE     |
|-----|---------|---------|---------|---------|---------|--------|
| DIV | 1       | -0,32** | -0,87** | -0,77** | 0,28**  | 0,2**  |
| FDN | -0,36** | 1       | 0,54**  | 0,2**   | NS      | 0,31** |
| FDA | -0,63** | 0,4**   | 1       | 0,69**  | -0,2**  | NS     |
| LDA | -0,42** | NS      | 0,67**  | 1       | -0,11** | -0,1** |
| RMS | 0,12**  | -0,24** | NS      | 0,29**  | 1       | 0,94** |
| RE  | NS      | 0,13**  | NS      | 0,20**  | 0,93**  | 1      |

Parcelas por debajo de la diagonal, lotes por encima de la diagonal. NS: no significativo; \*, \*\*: significativo al 5 y 1% de probabilidad, respectivamente.

En general, las variables presentaron mayores correlaciones cuando se calcularon con los datos obtenidos de lotes de producción que cuando se estimaron sobre los datos de parcelas ([Tabla 10](#)).

Correlaciones no significativas se encontraron entre FDA y RE para ambos ensayos, DIV y RE, FDN y LDA, FDA y RMS, para datos de parcelas, y RMS y FDN para datos de lotes. Las correlaciones entre las demás variables fueron altamente significativas ( $p < 0,01$ ) (Tabla 10).

Existieron correlaciones de signo contrario entre ambas bases de datos: LDA vs. RMS y LDA vs. RE, fueron positivas en parcelas y negativas en lotes.

**Tabla 11:** Correlaciones entre variables de calidad (digestibilidad *in vitro*, DIV; fibra detergente neutro, FDN; fibra detergente ácido, FDA y lignina detergente ácido, LDA) y rendimiento (materia seca, RMS y etanol, RE) con variables climáticas: precipitación (PP), temperatura mínima (T mín), media (T med) y máxima (T máx), en datos de parcelas y lotes, para el período 1999 – 2014.

| VARIABLES | PARCELAS |       |        |         | LOTES |       |        |       |
|-----------|----------|-------|--------|---------|-------|-------|--------|-------|
|           | PP       | T mín | T med  | T máx   | PP    | T mín | T med  | T máx |
| DIV       | NS       | NS    | NS     | NS      | NS    | NS    | NS     | NS    |
| FDN       | NS       | 0,57* | NS     | NS      | NS    | NS    | NS     | NS    |
| FDA       | NS       | NS    | NS     | NS      | NS    | NS    | -0,55* | NS    |
| LDA       | 0,56*    | NS    | -0,62* | -0,68** | NS    | NS    | NS     | NS    |
| RMS       | NS       | NS    | NS     | NS      | NS    | NS    | NS     | NS    |
| RE        | NS       | NS    | NS     | NS      | NS    | NS    | NS     | NS    |

NS: no significativo; \*, \*\*: significativo al 5 y 1%, respectivamente

Para ambos grupos de ensayos (parcelas y lotes), utilizando las medias de todos los años evaluados ([Tabla 11](#)) y las medias parciales del período 2009-2014 ([Tabla 13](#)), no se demostró que las variables climáticas (precipitación, temperatura mínima, media y máxima) influyeran significativamente sobre las variables de RMS de C+H y RE.

Sin embargo, ciertas asociaciones significativas se encontraron para las variables de calidad. En parcelas, la precipitación aumentó el contenido de LDA ( $r= 0,56$ ), pero un aumento de la temperatura media ( $r= -0,62$ ) o máxima ( $r= -0,68$ ) produjo su disminución. Contrariamente el contenido de la FDN aumentó directamente con la temperatura mínima ( $r= 0,57$ ).

### 5.5.2 Período 2009 - 2014

**Tabla 12:** Correlaciones entre variables de calidad (digestibilidad *in vitro*, DIV; fibra detergente neutro, FDN; fibra detergente ácido, FDA y lignina detergente ácido, LDA) y rendimiento (materia seca, RMS y etanol, RE) con variables climáticas: precipitación (PP), temperatura mínima (T mín), media (T med) y máxima (T máx), en datos de parcelas, para el período 2009 – 2014.

| P\L | DIV     | FDN     | FDA     | LDA     | RMS     | RE     |
|-----|---------|---------|---------|---------|---------|--------|
| DIV | 1       | -0,56** | -0,83** | -0,73** | 0,28**  | 0,14** |
| FDN | -0,13*  | 1       | 0,85**  | 0,45**  | -0,18** | 0,14** |
| FDA | -0,57** | NS      | 1       | 0,7**   | -0,2**  | NS     |
| LDA | -0,4**  | -0,55** | 0,67**  | 1       | -0,11** | NS     |
| RMS | 0,17**  | -0,44** | -0,16*  | 0,26**  | 1       | 0,94** |
| RE  | 0,13*   | 0,25**  | -0,18** | -0,18** | 0,75**  | 1      |

Parcelas por debajo de la diagonal, lotes por encima de la diagonal. NS: no significativo; \*, \*\*: significativo al 5 y 1% de probabilidad, respectivamente

En general, y al igual que lo encontrado con la base de datos completa ([Tabla 10](#)), se obtuvieron mayores valores de correlación con datos de lotes que de parcelas, para el período 2009 – 2014.

Exceptuando las correlaciones entre FDN y FDA para datos de parcelas, FDA y RE, y LDA y RE, para datos de lotes, que resultaron no significativas, las demás correlaciones entre las distintas variables resultaron altamente significativas ( $p<0,01$ ); y significativas al 5% entre DIV vs. FDN, DIV vs. RE y FDA vs. RMS, en datos de parcelas.

Existieron dos correlaciones con signo diferentes entre ambos ensayos, FDN vs. LDA, siendo negativa en parcelas y positiva en lotes, y LDA vs. RMS, positiva en parcelas y negativa en lotes, coincidiendo esta última al considerar la totalidad de los datos ([Tabla 10](#)).

Se obtuvieron mayores correlaciones para este período (2009 – 2014) entre la DIV y FDN; y FDA y FDN sobre datos de lotes, al compararlas con las obtenidas utilizando la totalidad de los años ([Tabla 10](#)). Y una asociación diferente entre LDA y RE en parcelas, al comparar ambos periodos, positiva para 1999 – 2014 ([Tabla 10](#)) y negativa para 2009 – 2014.



**Tabla 13:** Correlaciones entre variables de calidad (digestibilidad *in vitro*, DIV; fibra detergente neutro, FDN; fibra detergente ácido, FDA y lignina detergente ácido, LDA) y rendimiento (materia seca, RMS y etanol, RE) con variables climáticas: precipitación (PP), temperatura mínima (T mín), media (T med) y máxima (T máx), en datos de parcelas y lotes, para el período 2009 – 2014.

| VARIABLES  | PARCELAS |        |        |        | LOTES |       |        |         |
|------------|----------|--------|--------|--------|-------|-------|--------|---------|
|            | PP       | T min  | T med  | T max  | PP    | T min | T med  | T max   |
| <b>DIV</b> | NS       | NS     | NS     | NS     | NS    | NS    | NS     | NS      |
| <b>FDN</b> | NS       | NS     | NS     | NS     | NS    | NS    | -0,81* | -0,85*  |
| <b>FDA</b> | 0,85*    | NS     | NS     | -0,84* | NS    | NS    | -0,9*  | -0,96** |
| <b>LDA</b> | NS       | -0,82* | -0,91* | -0,94* | NS    | NS    | NS     | NS      |
| <b>RMS</b> | NS       | NS     | NS     | NS     | NS    | NS    | NS     | NS      |
| <b>RE</b>  | NS       | NS     | NS     | NS     | NS    | NS    | NS     | NS      |

NS: no significativo; \*, \*\*: significativo al 5 y 1% de probabilidad, respectivamente.

Comparativamente durante el período 2009-2014 ([Tabla 13](#)) se obtuvieron valores de correlación mayores que los estimados con la totalidad de los años evaluados ([Tabla 11](#)). En general las altas temperaturas influyeron disminuyendo las variables de calidad LDA, FDA y FDN. Por otro lado, las precipitaciones aumentaron el contenido de FDA, sólo en parcelas ( $r= 0,85$ ).

El contenido de LDA correlacionó altamente y de forma negativa con las temperaturas (mín., med. y máx.) en datos de parcelas en el período 2009 - 2014, y coincidentemente mostro el mismo comportamiento al analizar todos los años cuando se la correlacionó con las temperaturas media y máxima ([Tabla 11](#)). La FDA también correlacionó negativamente con la temperatura máxima en ambos ensayos y con la temperatura media sólo en lotes.

En datos de lotes, la FDN correlacionó negativamente con las temperaturas media y máxima. Por lo tanto, ambas variables, FDN y FDA, en lotes, pueden ser reducidas con altas temperaturas medias y máximas.

## 6. DISCUSIÓN

### 6.1 Variabilidad de las variables de rendimiento y calidad a través de los años

El ambiente tuvo mayor influencia en la variable de rendimiento que en las de calidad. El promedio de RMS de los 16 años tuvo un CV mayor a 28 % tanto para lotes como parcelas. El rango, calculado como la diferencia entre el mínimo y máximo, fue mayor para lotes que para parcelas, alcanzando altas magnitudes. Para lotes se encontraron 19.014 kg. ha<sup>-1</sup> de diferencia y para parcelas 16.055 kg. ha<sup>-1</sup> en el RMS.

En parcelas, ésto se debería a la amplia distribución que presentan los datos, consecuencia de la variabilidad climática interanual que existe al considerar un largo período de evaluación, principalmente asociada a condiciones de temperatura y precipitaciones (medias y frecuencias). Como así también al evaluar distintos tipos y números de híbridos por campaña, en una sola localidad por año, abarcando 4 localidades a lo largo de los 16 años de estudio.

En el caso de lotes, estos resultados se explicarían por la amplia heterogeneidad agroecológica involucrada en los ensayos, los cuales incluyeron lotes de producción en 24 localidades diferentes, empleándose distintos tipos y números de híbridos en cada campaña, con diversa tecnología y manejo agrícola.

Por lo tanto, la variabilidad estaría condicionada por las diferencias entre los materiales empleados (comerciales o pre-comerciales), el número de materiales evaluados, las condiciones particulares de manejo empleadas en cada región (tipo de labranza, fertilización, densidad, fecha de siembra, etc.) y adicionalmente, a las condiciones ecológicas de las regiones (tipo de suelos, régimen hídrico, historia de lotes, etc.).

Al considerar los 16 años de estudio en ambos tipos de ensayos, parcelas y lotes, se observaron promedios similares en la totalidad de las variables.

#### 6.1.1 Rendimiento de materia seca

Aunque las localidades consideradas en este estudio pertenecen a la medialuna lechera que rodea a la Ciudad Autónoma de Buenos Aires, con un radio de 450 km y centro en Capital Federal, se hallaron valores promedios de RMS coincidentes con los citados en otros estudios realizados en la zona núcleo (Pergamino y provincia de Santa Fe). Por ejemplo, el RMS considerando la planta completa (PC), promedio de los 16 años de estudio, fue de 18,5 ± 5,4 Mg. ha<sup>-1</sup> para parcelas y 18,05 ± 5,3 Mg. ha<sup>-1</sup> para lotes, resultados no informados debido a que exceden los objetivos de esta tesis (Ver Anexo).

Ambos valores fueron levemente superiores a 17,2 ± 2,7 Mg. ha<sup>-1</sup>, promedio informado por Scheneiter *et al.* (2012), en 16 años de evaluación en la localidad de Pergamino, provincia de Buenos Aires, entre los años 1995 y 2011. Y éste fue semejante a los valores medios obtenidos en el Centro-Oeste de Santa Fe durante 7 años de ensayos, entre 2003 y 2010, igual a 17,9 ± 1,3 Mg. ha<sup>-1</sup> (Romero, com. pers. citado en Scheneiter *et al.*, 2012).

Camarasa *et al.* (2016) obtuvieron un valor de  $19,5 \pm 1,8$  Mg. ha<sup>-1</sup> (n=5) para el RMS PC en la campaña 2015-16 y  $27,0 \pm 2,5$  Mg. ha<sup>-1</sup> (n=10) en la campaña 2014-2015 en Pergamino. El promedio más alto fue coincidente con el registrado en este estudio en el año 2000 en parcelas (RMS PC: 27,7 Mg. ha<sup>-1</sup>, resultado no informado, ver Anexo). Mientras que el segundo valor fue similar y menor a rendimientos encontrados en parcelas (años 2002, 2004, 2006, 2009, 2011, 2012, 2013 y 2014 con valores: 20,6; 18,1; 20,4; 23,9; 18,7; 21,8; 23,8 y 24,4 Mg. ha<sup>-1</sup>, respectivamente, ver Anexo) y en lotes (2001; 2002; 2003; 2009; 2011; 2012; 2013 y 2014 con valores 19,9; 19,0; 18,3; 19,2; 19,2; 19,9; 22,4 y 23,9 Mg. ha<sup>-1</sup>, respectivamente, ver Anexo).

Estos resultados señalan que pueden obtenerse similares RMS PC en localidades de menor aptitud agrícola, como las incluidas en este estudio, que los obtenidos en la zona núcleo de producción de maíz.

### 6.1.2 Digestibilidad *in vitro*

En la bibliografía mayormente se detallan análisis de calidad sobre PC y pocas veces se ha estudiado específicamente la fracción vegetativa (C + H) separadamente de la espiga, como se refiere en nuestro estudio. Por tal motivo y a fin de poder comparar estos resultados con lo demostrado por otros autores, se arribó al promedio de DIV de PC de los 16 años bajo análisis, siendo ligeramente superior en parcelas que en lotes, 66,16 % vs. 64,46 %, respectivamente (ver Anexo).

Estos porcentajes fueron superiores al promedio de una serie de 10 años informado por Scheneiter *et al.* (2012), para la localidad de Pergamino, siendo igual a  $59,6 \pm 3,5$  %. A su vez este valor se asemeja al 60,2 % reportado para muestras tomadas de productores en la provincia de Buenos Aires (Schroeder *et al.*, 2000) y al 61,9 % informado para las provincias de Santa Fe y Córdoba resultado de tres campañas (1995/96 - 1996/97 - 1997/98) (Romero *et al.*, 1999).

Con promedios de ensayos más antiguos en el área de Pergamino se han detectado diferencias en la DIV de hasta 17 unidades porcentuales, donde la DIV PC osciló entre 53,2 y 70,2 %, con una media de  $64,4 \pm 3,9$  % (n= 62) (Carrete, 2000).

Nuestros resultados mostraron altos promedios de DIV PC en ensayos de parcelas en los años 2001, 2003, 2005, 2006, 2007, 2010, 2011, 2012, 2013 y 2014, variando de 65,59 a 71,8 %, y en lotes en los años 2001, 2003, 2007, 2008, 2009, 2010, 2011, 2012, 2013 y 2014, con porcentajes desde 64,52 a 69,78 % (resultados no informados, ver Anexo). Todos estos porcentajes fueron superiores a los promedios de las campañas 2015-16 y 2014-15 en Pergamino, donde la DIV de PC fue de  $60,9 \pm 2,0$  y  $63,8 \pm 5,7$  %, respectivamente (Camarasa *et al.*, 2016). Diferentes resultados pueden deberse a las características agroclimáticas y/o edafoclimáticas disímiles y/o al tipo de metodología utilizada para la determinación de DIV, o al tipo y número de genotipos utilizados.

Como se señaló anteriormente durante esos años también se obtuvieron buenos RMS PC. Lo cual expresa que, adicionalmente, es posible obtener fuera de la zona núcleo, maíces no sólo con buenos rindes sino con alta calidad forrajera.

Al igual que la amplia variabilidad de nuestros resultados, Scheneiter *et al.* (2012), hallaron valores de DIV que no presentaron el mismo patrón todos los años, ya que en algunos la DIV PC descendió con el avance de la madurez y en otros varió o bien aumentó la calidad general de la planta. Las inconsistencias entre años probablemente se debieron al efecto del ambiente sobre la maduración y composición química del cultivo.

La DIV C+H es variable en función del contenido de pared celular, de la cantidad y composición bioquímica de la lignina y de su distribución en la pared secundaria de las células vegetales (Jung & Allen, 1995).

Nuestros resultados señalaron que el porcentaje de DIV C+H fue menor al porcentaje obtenido para la PC. Esto coincide con lo esperado, dado que la DIV PC es mayormente condicionada por el mayor aporte de la DIV de la espiga y en menor proporción por la porción vegetativa (ver [Figura 2](#)).

Considerando los 16 años de estudio, se obtuvieron promedios similares en parcelas y lotes, con valores de 45,69 y 45,06 %, respectivamente. Con valores promedio por campaña desde 37,73 % (año 2009) a 52,09 % (año 2013) en parcelas y desde 39,04 % (año 2009) a 51,63 % (año 2012) en lotes. Tales valores estuvieron en concordancia con los materiales evaluados en la experimental agropecuaria de Pergamino (Carrete, 2000), donde los híbridos oscilaron entre 43,3 a 55,2 %, con una media de  $47,4 \pm 2,8$  % (n=26). Por otro lado, Hongwu *et al.* (2016), obtuvieron valores entre 25,1 a 56,3 % con un promedio de DIV en tallo igual a 43,2 %, en el momento de madurez fisiológica, momento fenológico posterior al evaluado en esta tesis.

Además, nuestro estudio demostró un aumento significativo en los porcentajes promedios de DIV C+H observados en lotes en los últimos 5 años (2010 a 2014), y en parcelas en los últimos 3 (2012 a 2014).

### 6.1.3 Fibra detergente neutra

El porcentaje de FDN se utiliza para estimar los componentes de la pared celular (celulosa, hemicelulosa y lignina) y se encuentra relacionado en forma inversa con el consumo voluntario del animal. Naturalmente, la FDN de la fracción vegetativa aumenta con el avance de la madurez del cultivo. Sin embargo, su efecto sobre la calidad general de la planta puede verse enmascarado por el aumento del porcentaje de grano y la correspondiente disminución del resto de la planta (Di Marco & Aello, 2002). Por tal motivo, es ideal contar con la determinación de esta variable en ambas fracciones de la planta en forma separada, C+H vs. E.

Además, para poder predecir y/o inferir el rendimiento potencial de etanol y/u otros posibles usos del material fibroso, es necesario contar con el análisis de distintas variables de calidad, separando las fracciones de la planta (C+H y E), como se propone en este estudio.

Los promedios anuales de FDN abarcaron distintos valores desde 47,74 % (año 2012) a 67,12 % (año 2013) para datos de parcelas; y desde 44,04 % (año 2004) hasta 67,87 % (año 2013) en lotes. Hongwu *et al.* (2016) evaluando el promedio de 368 líneas en 3 años (2010, 2011

y 2012) en diversidad de ambientes, al estado de madurez fisiológica, informó un rango de 54,7 a 74,3 % FDN y media igual a  $64,1 \pm 3,6$  %. También Hansey *et al.* (2010), evaluando en madurez fisiológica ( $n = 23$ ) citó un valor de 70,9 % en 2006 para 2 localidades de Estados Unidos.

Se evidencia una similitud en los resultados obtenidos en nuestro trabajo y los citados en la bibliografía.

#### 6.1.4 Fibra detergente ácido

El porcentaje de FDA representa el contenido de celulosa y de lignina de la pared celular relacionándose en forma inversa con el coeficiente de digestibilidad (Guaita *et al.*, 2005). Los promedios anuales en parcelas variaron desde 31,24 (año 2008) a 40,13 % (año 2002) y desde 29,97 (año 2011) a 38,77 % (año 2009) en lotes, mientras que las mediciones por Hongwu *et al.* (2016) abarcaron un rango de 27,9 a 43,4 % con un promedio de  $35,2 \pm 2,8$  %. También Hansey *et al.* (2010) citó un valor semejante (41,48 %), ambos al momento de madurez fisiológica. Como en el caso anterior se obtuvieron valores similares que se corresponden con la bibliografía.

#### 6.1.5 Lignina detergente ácido

La LDA estima la concentración de lignina de la pared celular de los forrajes. La lignina es un polímero tridimensional y es el tercer constituyente más abundante de la biomasa lignocelulósica.

Los porcentajes promedios de LDA por año abarcaron valores desde 4,08 (año 2008) a 7,22 % (año 2006) en parcelas y desde 4,16 (año 2012) a 7,33 % (año 2005) en lotes.

La concentración y la composición de diferentes tipos de lignina presentes en la pared celular influyen en la convertibilidad de la materia prima a etanol (Vanholme *et al.*, 2008).

La LDA fue una de las variables que presentó valores de CV medios a altos, luego del RMS y RE. En parcelas el porcentaje fue menor que en lotes, pudiendo esto deberse a la mayor influencia ambiental que ocurre en estos últimos.

#### 6.1.6 Estimación del rendimiento de etanol

Existen numerosos trabajos que demostraron que el rendimiento de etanol por hectárea utilizando el rastrojo de maíz, depende tanto de la cantidad de rastrojo cosechable producido por hectárea como de la concentración y convertibilidad de los carbohidratos de la fibra (Hansey *et al.*, 2010).

En esta tesis el RE fue estimado para cada año a través de un cálculo que presenta una asociación directa con el contenido de celulosa, de hemicelulosa y el RMS de C+H (Ver materiales y métodos). En función de estas relaciones se puede explicar los promedios de RE obtenidos. Para los 16 años evaluados los valores de RE fueron similares para parcelas y lotes (2.418,49 y 2.620,06 l ha<sup>-1</sup>, respectivamente). Sin embargo, los RE extremos (altos y bajos) para lotes y parcelas no coincidieron en los mismos años.

Particularmente analizando años puntuales, altos RE pueden ser explicados por un alto RMS como ocurrió en el año 2000 en parcelas y en 2013 en lotes (4.108 y 3.660,39 l ha<sup>-1</sup>,

respectivamente). Sin embargo, en otros casos altos RMS estuvieron asociados a RE bajos. Esta disminución pudo ser explicada por la existencia de un menor porcentaje de FDN que condicionó la disminución del contenido de hemicelulosa (año 2012 en parcelas). También, la presencia de bajos RMS y bajos porcentajes de FDN condicionaron una reducción en el RE (año 2004 en lotes).

Zhao *et al.* (2009), aplicando el mismo cálculo de RE sobre hojas, tallos y panojas de sorgo en floración y 40 días posteriores a esta, arribaron a valores entre 1.796 y 6.591 l ha<sup>-1</sup>. Concluyeron que los tallos son los componentes más importantes para la producción de bioetanol (Zhao *et al.*, 2009). Sin embargo, el año, el momento de cosecha y el cultivar tuvieron elevados efectos significativos en el RE.

También en trabajos de maíz se demostró que el tallo aporta la mayor cantidad de biomasa en madurez fisiológica, constituyendo el 46,2% del peso de la materia seca de PC, y la hoja estaría en segundo lugar con el 30,2 % (Hansey *et al.*, 2010).

Otro estudio ha informado rendimientos para la producción de bioetanol a partir de biomasa lignocelulósica igual a 2.500 l ha<sup>-1</sup> en híbridos de maíz dulce (Barros-Rios *et al.*, 2015).

Los valores de celulosa y lignina obtenidos en nuestro estudio fueron menores a los mencionados en la bibliografía. Esto es esperable debido a que el momento de evaluación de los híbridos correspondió a un contenido de 30 – 40 % de materia seca, momento anterior al estado de rastrojo, ya que el contenido de celulosa y lignina depende del momento de cosecha de los cultivos (Tutt *et al.*, 2013).

Según la bibliografía, el rastrojo de maíz está compuesto por 38 – 40 % de celulosa, 28 % hemicelulosa y 7 – 21 % de lignina (Rocha–Meneses *et al.*, 2017). Los híbridos evaluados en esta tesis promediaron un valor de 29,22 % de celulosa, con un rango de 17,60 a 37,84 % para datos de parcelas y de 12,80 a 39,14 % en lotes; y un valor medio de hemicelulosa de 27,15 % (de 5,13 a 35,89 %) en parcelas y 26,96 % (5,68 a 39,72 %) en lotes. La lignina promedió 5,59 % en parcelas y 5,67 % en lotes.

En la caña y en las hojas la formación de pared celular cesa después de la formación del grano. Sin embargo, la cantidad de pared celular no digestible sigue aumentando debido a que continúa su lignificación. Al momento del picado, el 70 % de los compuestos menos digestibles de la pared celular se encuentran en la C+H y sólo el 50 % de los compuestos más digestibles (Zannier 2012).

Pordesimo *et al.* (2005) encontraron que la composición de las diferentes fracciones de la planta, caña y hojas permanece bastante constante después de que el grano ha alcanzado los niveles más bajos de humedad de cosecha, lo cual eliminaría parte de la variabilidad para un proceso basado en la fermentación.

Como se mencionó anteriormente se observaron grandes diferencias entre los promedios anuales en las distintas variables de calidad y rendimiento de biomasa analizadas. Esto puede ser debido a la gran cantidad de factores bióticos y abióticos que influyen durante

todo el proceso productivo afectando la calidad del forraje de maíz. Entre otros, la elección del híbrido, calidad de la fracción vegetativa (Bertoia, 2009), clima, densidad de siembra, madurez a cosecha (Romero, 2004), momento de corte, altura de corte (Aello *et al.*, 2008), nivel de fertilización, tamaño de picado, control de plagas y enfermedades, año y sitio de siembra.

Zannier (2012) plantea que el efecto del ambiente es muy importante, siendo su variabilidad igual o mayor que la debida al híbrido. Para un sitio dado, la calidad intrínseca del híbrido y las condiciones ambientales durante el desarrollo del cultivo condicionan la calidad del forraje.

## **6.2 Comportamiento de las variables durante el periodo de estudio**

Si bien la mayoría de los ajustes en las rectas presentaron coeficientes de determinación bajos al analizar los 16 años bajo estudio, las tendencias (pendientes) fueron altamente significativas, lo cual permite discutir y analizar los incrementos o disminuciones registrados en las distintas variables a través de los años considerados.

### **6.2.1 Rendimiento de materia seca**

Nuestros resultados demostraron un incremento para el RMS en C+H (203 y 137 kg ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup> en parcelas y lotes, respectivamente) a través del período 1999 – 2014. Esta tendencia podría ser explicada por una mejora en las técnicas de cultivo aplicadas o por la obtención de nuevos genotipos mejorados.

Cuando se analizaron los últimos años (2009 – 2014) el aumento fue mayor en lotes, pero menor en parcelas (630,3 y 161,9 kg ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup>, respectivamente). Esta amplia diferencia en la ganancia de RMS entre lotes y parcelas podría estar determinada por una mayor influencia de la mejora del manejo en los lotes de producción.

Coincidentemente, otros estudios realizados utilizando la PC, han demostrado un incremento de 0,11 Mg. ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup> en el RMS de maíz forrajero atribuible a mejoras en el ambiente de cultivo, realizadas en el Reino Unido entre los años 1977 y 2007 (Mackay *et al.*, 2011). Barriere *et al.* (2003) en Francia, también encontraron una mejora en el RMS de 0,17 Mg. ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup> durante el período 1986 – 2000. Un amplio rango de cultivares de maíz antiguos y modernos (obtenidos desde 1930 a 1998), fueron evaluados en tres localidades de Wisconsin, Estados Unidos, durante los años 1997 y 1998. Los resultados demostraron un aumento del rendimiento forrajero relacionado con la mejora genética igual a 0,15 Mg ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup>. Al analizar sólo el componente C+H la tasa de aumento del RMS fue más baja, 0,048 Mg. ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup> (Lauer *et al.* 2001). Contrariamente Velazco (2014) reportó una disminución del rendimiento de PC evaluado a lo largo de 18 años (a razón de 348 kg ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup>) en Pergamino, cuando consideró únicamente el efecto ambiental. Sin embargo, cuando estudió el efecto genético esa tendencia se revirtió a un aumento del RMS PC igual a 382,9 kg ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup>.

### 6.2.2 Digestibilidad *in vitro*

Se encontró un incremento de la DIV en el componente C+H acentuado marcadamente en los últimos años de estudio (período 2009 - 2014), aumentando a razón de 2,25 % año<sup>-1</sup>, lo cual podría estar indicando un progreso genético independientemente de las fluctuaciones provocadas por el ambiente. La mejora genética obtenida confirma la utilización de ciertas líneas diferenciadas por tener alta DIV y mayor energía metabolizable.

La tendencia de un aumento de la DIV en C+H observada a través de los 16 años evaluados (0,46% año<sup>-1</sup> en lotes y 0,74% año<sup>-1</sup> en parcelas) fue superior al incremento informado por Velazco (2014), donde la DIV evaluada en este caso sobre PC, aumentó a razón de 0,138 % año<sup>-1</sup>, para un período de 18 años de evaluación, abarcando las campañas desde 1996/97 a 2013/14, en la localidad de Pergamino. La tendencia observada en este trabajo estuvo asociada a un cambio fenotípico. Sin embargo, Velazco estudiando la tendencia genética de la DIV de PC, encontró una disminución a razón de 0,16% año<sup>-1</sup>. Esto podría indicar un progreso genético nulo asociado a los programas de mejoramiento de maíz forrajero aplicado en los últimos años y/o una baja variabilidad genética de esta variable en maíz (Bertoia *et al.*, 2002). Contrariamente otros autores han demostrado una heredabilidad media a alta con un efecto genético aditivo importante (García Stepien *et al.*, 2014; Hongwu *et al.* 2016).

Barriere *et al.* (2005), mencionaron un aumento de DIV de PC, explicado por un aumento de la DIV del componente espiga y/o por una disminución del contenido promedio de pared celular (FDN, FDA y LDA) a través del tiempo.

En Bélgica, durante el período 1991 - 2001 sobre la base de las cinco mejores variedades de ensilaje de maíz, el porcentaje de DIV PC aumentó a razón 1,2 % año<sup>-1</sup> (Van Waes, 2003), lo que indicó una mejora en la digestibilidad de la planta entera. Sin embargo, debido a que el rendimiento de grano de las plantas aumentó un 2,8% por año en el mismo período, esta mejora de la digestibilidad de toda la planta se produjo probablemente sin una mejora en la digestibilidad del resto de la planta (Barriere *et al.*, 2005).

En Estados Unidos, un estudio sobre 36 cultivares encontró un aumento de la digestibilidad del forraje en la PC igual a 0,538 y 0,612 g kg<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup>, en siembras tardías y tempranas, respectivamente. Mientras que la digestibilidad medida en C+H mostró una tendencia a disminuir cuando se analizaron los cultivares en siembras tardías, a razón de 0,166 g kg<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup>, no existiendo cambios en siembras tempranas (Lauer *et al.* 2001).

Lauer *et al.* (2001), atribuyen los pocos cambios generados a lo largo del tiempo en la calidad de C+H, a la falta de atención por parte de los mejoradores a seleccionar separadamente los diferentes componentes de la planta (Lauer *et al.*, 2001).

### 6.2.3 Fibra detergente neutra

Un incremento en el contenido de FDN en la C+H de maíz aumentaría el potencial bioenergético de la producción de etanol a través de la generación secundaria, ya que esta variable estima la composición de la fibra (celulosa, hemicelulosa y lignina).



En este trabajo se demostró una débil relación entre el porcentaje promedio de FDN y los años. Especialmente en evaluaciones de lotes, se observó una pendiente positiva, igual a  $0,4 \text{ \% año}^{-1}$ . Valor que debe ser considerado bajo ya que el promedio en lotes fue de  $62 \pm 6,9 \text{ \%}$ .

Lauer *et al.* (2001) evaluando la evolución de 68 años sobre 36 cultivares, hallaron que la concentración de FDN sobre la PC disminuyó a razón de  $0,948$  y  $0,825 \text{ g kg}^{-1} \text{ año}^{-1}$ , para siembras tempranas y tardías, respectivamente. Pero al analizar el componente C+H en siembras tempranas, observaron un aumento de la concentración de FDN a razón de  $0,296 \text{ g kg}^{-1} \text{ año}^{-1}$  para el periodo 1930 a 1998.

#### 6.2.4 Fibra detergente ácido

La FDA estima la concentración de celulosa y lignina en los forrajes. En los 16 años de estudio se arribó a pendientes positivas muy bajas (en parcelas y en lotes), sin observarse una tendencia definida para esta variable a través del tiempo. Las pendientes se revirtieron en el último período analizado (2009 – 2014, [Figura 6](#)), siendo negativas.

Coincidentemente Lauer *et al.* (2001) no encontraron una tendencia significativa al analizar la C+H. Además, informaron una disminución de la concentración de FDA igual a  $0,698 \text{ g kg}^{-1} \text{ año}^{-1}$  al evaluar la PC en un largo período (1930 a 1998) utilizando siembras tempranas; y un aumento de la concentración de FDA de  $0,544 \text{ g kg}^{-1} \text{ año}^{-1}$  en siembras tardías, para el mismo período. El efecto ambiental sobre dicho carácter podría ser mayor que para cualquier otra variable de calidad.

#### 6.2.5 Lignina detergente ácido

Lorenz *et al.* (2009 b) definió que la LDA, DIV y DFDN permiten estimar la convertibilidad de los carbohidratos estructurales a etanol. Ya que se encuentran relacionadas con la digestibilidad de la pared celular.

Para la LDA ambas regresiones (parcelas y lotes) mostraron una pendiente negativa a través de los años ([Figura 5](#)), con una baja asociación entre el porcentaje y años. Este comportamiento podría, en parte, estar asociado a la incorporación de genes mutantes en los últimos años (híbridos “Brown midrib”), donde dichos genes afectan distintos pasos de la ruta metabólica en la síntesis de la lignina. Esta tendencia observada favorecería ampliamente a un mayor porcentaje de convertibilidad de la materia prima a etanol.

Además, esta variable tiene la ventaja de una medición rápida, sencilla y de menor costo, y podría ser utilizada como herramienta para inferir sobre la producción de etanol celulósico, de cualquier material fibroso, cuando las mediciones de DFDN fueran difíciles de obtener (Lorenz *et al.*, 2009 b).

La materia prima con menor contenido de lignina facilita el acceso a carbohidratos, como la celulosa, favoreciendo la producción de etanol lignocelulósico. Debido a sus propiedades, la lignina es el principal obstáculo para la hidrólisis enzimática (Agbor *et al.*, 2011). Un alto contenido de lignina da como resultado una baja digestibilidad de la biomasa, por lo tanto, el aumento de la remoción de lignina aumenta dicha digestibilidad (Chang & Holtzapfle, 2000).

### 6.2.6 Estimación del rendimiento de etanol

Se evidenció un aumento del RE en los últimos años, consistente al aumento observado del RMS y la FDN, y a la disminución de LDA. A su vez la DIV también aumentó significativamente asegurando una mayor convertibilidad de los carbohidratos de la pared celular en etanol (Lorenz *et al.*, 2009 b).

### 6.3 Análisis Multivariado

Al realizar un análisis multivariado de las variables clasificando las campañas, se observó que los años 2012, 2013 y 2014 de lotes ([Figura 8](#)) se agruparon en un cluster, al igual que los años 2000, 2013 y 2014 de parcelas ([Figura 7](#)), ambos clusters compartieron los mayores RMS ([Tablas 7](#) y [8](#)). Para esta variable también alcanzó alto RMS el año 2012 de parcelas, no mostrando diferencias significativas con el cluster 3 ([Tabla 7](#)). Estos resultados confirmaron a los tres últimos años como los de mayor RMS, tanto en parcelas como en lotes. También estos años registraron los valores promedios más altos para DIV y FDN y como consecuencia alto RE, lo cual refuerza las asociaciones positivas entre una mayor calidad y rendimiento con un mayor porcentaje de fibra, discutidas anteriormente, a través del período analizado.

Al clasificar las variables teniendo en cuenta los ambientes (localidad x año) ([Figura 8](#)) se observó que aquellos que clasificaron en un mismo cluster pertenecieron a años similares más que a localidades cercanas geográficamente. La posibilidad de que en campañas sucesivas se ensayaran germoplasmas similares podría explicar este comportamiento. Por lo tanto, estos agrupamientos reforzarían la idea de un patrón de respuesta semejante para la producción y calidad de la biomasa.

Concidentemente Templeton *et al.* (2009) mencionó al año de cosecha (campaña) como el primer factor responsable de la variabilidad observada, por sobre el ambiente (localidad) y la variedad (híbridos). Analizó un amplio número de rastros de maíz ( $n = 508$ ) de 47 ubicaciones en ocho estados del cinturón maicero de los Estados Unidos, para determinar la composición promedio y la variabilidad de la composición de dicha materia prima.

Por su parte, Velazco (2014), analizando para 18 años el RMS y la DIV de la PC sobre híbridos de maíz en Pergamino, observó que las varianzas genotípicas fueron muy bajas en relación a las varianzas de los efectos del año, estos últimos representaron más del 75% de la variabilidad total. En el caso de la DIV, la interacción híbrido x año fue proporcionalmente más importante que la variabilidad asociada a los genotipos.

### 6.4 Asociación entre variables de rendimiento, calidad y climáticas

#### 6.4.1 Asociación entre variables

Scheneiter *et al.* (2012), comprobó que en algunas oportunidades el incremento de rendimiento ( $\text{Mg. ha}^{-1}$ ) de la PC, puede estar acompañado por un aumento de la FDN, aunque no han observado efectos sobre la digestibilidad de la materia seca. Sin embargo, en los resultados de este estudio, considerando sólo la fracción C+H, ocurrió lo contrario, el RMS

promedio se relacionó inversamente con el promedio de FDN, cuando la PC alcanzó entre un 30 y 40% de la materia seca y directamente con la DIV. Estas relaciones evidencian que el aumento de RMS produciría un aumento de la calidad de la fibra.

Las diferencias entre los distintos estudios pueden estar explicadas por las mediciones en distintas fracciones de la planta (PC y/o C+H) o bien por los diferentes momentos de cosecha.

También nuestros resultados se diferenciaron de los encontrados por Scheneiter para el porcentaje de DIV, ya que se redujo al aumentar el contenido de FDN, coincidiendo esto con lo presentado por Lorenz *et al.* (2009 b).

Tanto para lotes como para parcelas, existieron asociaciones negativas entre la DIV y las variables relacionadas con la fibra. Los valores más altos fueron encontrados entre DIV vs. FDA y DIV vs. LDA. Relaciones similares fueron encontradas por Lorenz *et al.* (2009 b) y Wolf *et al.* (1993). Este último analizó 24 genotipos de maíces en dos ambientes (1990 y 1991), separando los tallos y hojas de la PC, al estado de media línea de leche. Otros autores (Roth *et al.*, 1970, Crasta *et al.*, 1997) también han demostrado que FDA y FDN del forraje de PC están inversamente relacionadas con la digestibilidad.

Barrière *et al.* (2003), observaron que las correlaciones entre el contenido de lignina y la digestibilidad de la pared celular variaron de -0,3 a -0,9, dependiendo del germoplasma involucrado, y en función de los métodos utilizados para estimar dichas variables. Más del 50 % de la variación encontrada sobre la digestibilidad de la pared celular no fue explicada solamente por el contenido de lignina, sino también por la variación en la estructura de la lignina. El nivel de lignificación contribuye a la disminución de la digestibilidad de la pared celular, sin embargo, existen diferentes estudios con variaciones aleatorias de esta relación (Barriere *et al.*, 2003).

Resultados similares se encontraron en este trabajo al relacionar la DIV y LDA, siendo valores elevados iguales a -0,42 para parcelas y -0,77 para lotes, en la totalidad de los años evaluados, y -0,4 en parcelas y -0,73 en lotes, para el período 2009 – 2014.

Coincidentemente, Hongwu *et al.* (2016) al evaluar C+H de 368 líneas en siete ambientes en el momento de madurez fisiológica, en 3 años (2010, 2011 y 2012), arribaron a correlaciones positivas y significativas entre FDA y FDN ( $r = 0,90$ ), mientras que la DIV mostró una fuerte correlación negativa con FDA y FDN ( $r = -0,81$  y  $r = -0,74$ , respectivamente).

En nuestro caso, se obtuvieron menores valores de correlación entre FDN y FDA para parcelas y lotes, 0,4 y 0,54, respectivamente, y esta relación se incrementó, para datos de lotes, en el último período analizado (2009 – 2014), siendo  $r = 0,85$ .

La asociación entre FDN y LDA fue la más variable comparando los tipos de ensayos, no existiendo relación en parcelas y siendo positiva en lotes, para todo el período analizado. Mientras que fue negativa ( $r = -0,55$ ) en parcelas y positiva en lotes ( $r = 0,45$ ), en los últimos años estudiados (2009 – 2014). Por su parte, Lorenz *et al.* (2009 b) informó una alta asociación positiva entre estas variables ( $r = 0,91$ ) analizando 13 híbridos de maíz de calidad variable.

Por otro lado, el RE estuvo mayormente correlacionado con el RMS, ya que esta variable participó en el cálculo de estimación de etanol potencial. También estuvo asociado de manera positiva con la FDN en ambos ensayos, contrariamente a lo informado por Lorenz *et al.* (2009 b),

quienes no encontraron relación con esta variable. Estas diferencias podrían deberse a la utilización de distintos métodos de medición, momento de evaluación y tipos de híbridos estudiados.

También este autor encontró un aumento en la producción de etanol medido en ensayos de laboratorio con la disminución de concentración de LDA. Mientras que nosotros encontramos la misma relación en los resultados de lotes para todo el período de años, y en parcelas para los últimos años (2009 – 2014). Sin embargo, se evidenció una asociación inversa (aumento de RE con aumento de LDA) en resultados de parcelas cuando se consideraron todos los años ensayados.

La FDA fue la variable menos determinante del RE. Y el aumento de la DIV se asoció a un aumento del RE, coincidiendo este resultado por lo informado por Lorenz *et al.* (2009 b).

Otra variable importante relacionada al RE es la DFDN. Esta una medida de la composición y disponibilidad de los carbohidratos estructurales de la pared celular. Es posible su estimación combinando la DIV con la FDN (Van Soest, 1994; Struik, 1983); mediante  $DFDN = 100 \{ [FDN - (100 - DIV)] / FDN \}$ . Su evaluación colabora en la predicción de la convertibilidad de la materia prima en bioetanol (Lorenz *et al.*, 2009 b).

García Stepien (com. pers., 2017) halló una correlación significativa ( $r = 0,38$ ) entre la DIV C+H (cosecha con 30-40% de MS PC) y la DIV C+H en rastrojo (humedad del grano menor a 20%), al evaluar 44 genotipos (híbridos comerciales, pre-comerciales y compuestos sintéticos) en 3 campañas (2012/13, 2013/14 y 2014/15). También Ruiz (1993), no encontró diferencias significativas en el contenido promedio de DIV, porcentaje de FDA y otras variables, entre hojas verdes y secas de maíz.

Por lo tanto, la alta DIV C+H encontrada en los híbridos evaluados en los últimos años se mantendría también en la post cosecha de grano, justificándose así una buena performance de la materia prima para la producción de bioetanol lignocelulósico.

#### 6.4.2 Asociación con precipitaciones

Las precipitaciones condicionaron el contenido de fibra del componente C+H. Los resultados en ensayos de parcelas indican que a mayores precipitaciones se obtuvieron mayores porcentajes de LDA y FDA.

En contraposición Romero *et al.* 2004, encontró que la falta de humedad afectaría la calidad de la PC, por el aumento de contenido de lignina en la fibra. Se debe remarcar que la calidad de la PC está muy condicionada por la DIV de la E, y en mucho menor medida por la DIV de la C+H. Nuestros estudios se basaron en la calidad de la C+H y por lo tanto, dichos resultados no son comparables.

No se demostró relación entre la DIV y las características climáticas consideradas, ni en lotes, ni en parcelas. Otros autores demostraron que la DIV PC disminuye en condiciones de sequía, al igual que la DIV E, pero aumenta la DIV del componente C+H. Esto puede explicarse que, en condiciones de estrés, existe una menor removilización de carbohidratos desde el

componente vegetativo hacia la espiga. Debido a la escasez hídrica se produce menor desarrollo de la espiga, componente que más aporta a la digestibilidad de la PC (Bertoia, com. pers., 2016).

#### 6.4.3 Asociación con temperaturas

En general, las temperaturas afectaron negativamente el contenido de fibra (FDN, FDA y LDA). La LDA se vio afectada negativamente por las tres temperaturas, mínima, media y máxima, sobre resultados de parcelas. La lignina es el principal limitante de la digestión de forrajes en rumiantes (Jung & Allen, 1995). La disminución de la FDA y LDA produce un aumento de la digestibilidad (Hunt *et al.*, 1992). Se esperaría que las altas temperaturas produzcan una disminución de los contenidos de fibra y aumente la digestibilidad de la misma.

García Stepien (2012) registró una caída en la calidad de la fracción vegetativa cuando se establecieron altas temperaturas entre el período de siembra y R1. También Buxton (1996) estableció una relación inversa entre la temperatura y la calidad forrajera.

Sin embargo, no se encontró asociación significativa de la DIV C+H con ningún carácter climático. Además, se ha demostrado una alta variabilidad genética para la DIV de C+H (García Stepien *et al.*, 2014), registrándose altos valores de heredabilidad para dicha variable (Hongwu *et al.*, 2016), especialmente cuando se la evaluó en estado de ensilaje (Dihlon, 1990). Mientras que para la mayoría de las variables de calidad los valores de heredabilidad son menores cuando se las mide en estadio pos cosecha de grano (Dihlon, 1990).

En general se puede decir que situaciones ambientales extremas, que comprometen el tejido foliar, reducen la digestibilidad. Condiciones de manejo no precisas, que tuvieron lugar durante la cosecha en ensayos de lotes, podrían modificar el porcentaje de fibra, por ejemplo, el momento de corte relacionado con el estado fenológico de la planta, o la altura de corte podría aumentar el porcentaje de tallo produciendo una variación azarosa en el contenido de fibra, etc. (Scheneiter 2012).

Existieron resultados disímiles en otros ensayos realizados en Argentina, así, por ejemplo, Spada *et al.* (2000) y Díaz y Di Nucci de Bedendo (2002) no observaron diferencias entre momentos de cosecha mientras que Van Olphen *et al.* (1998) hallaron menor DIV con la demora en la cosecha (Scheneiter, 2012).

De acuerdo con Carrete (2000) las condiciones ambientales antes de la floración, y en particular la temperatura, afectan el contenido y la digestibilidad de la pared celular. De modo que, altas temperaturas desde el estado de 7 a 8 hojas hasta el llenado del grano incrementan la deposición de pared celular y su falta de digestibilidad. Luego de la floración, la digestibilidad de la planta puede incrementarse, decrecer o permanecer constante. Cuando la temperatura es moderada y la humedad no es limitante se produce un rápido llenado de los granos que mejora la relación entre carbohidratos y pared celular, y por ende se produce un incremento en la digestibilidad de la planta completa.

La capacidad que tienen algunos híbridos de mantener vivo gran parte de su tejido foliar (stay green) durante el llenado de los granos, así como la sanidad foliar, son dos aspectos que

contribuyen a mejorar la calidad del forraje (Dwyer *et al.*, 1998; Cox & Cherney, 2001; Sattler *et al.*, 2010). Otros productos modernos del mejoramiento, orientado a incrementar el rendimiento de maíces forrajeros, son los mutantes leafy I, que tienen la particularidad de aumentar el número de hojas por arriba de las espigas.

## 7. CONCLUSIONES

El estudio de la evolución del rendimiento y calidad del componente caña + hojas en diversos híbridos de maíz a lo largo de los últimos tres quinquenios permitió inferir sobre su aptitud como materia prima para la producción de etanol lignocelulósico. Los resultados alcanzados aportaron información valiosa, ya que existen pocos trabajos a nivel nacional que hayan contemplado ambas características en conjunto.

Es posible rechazar lo planteado en la hipótesis debido a los resultados observados sólo en el último quinquenio. En este período se detectó una leve tendencia en la mejora de la calidad de híbridos de maíz, evidenciada por el aumento de la digestibilidad *in vitro* de la caña + hojas. Posiblemente, la concentración de establecimientos lecheros producida en ese período trajo aparejado una mayor aplicación de tecnología, y como consecuencia una mayor exigencia en calidad forrajera. Esta situación ha generado presión a los semilleros para desarrollar proyectos de mejoramiento aplicados a la selección de maíces con mayor calidad de la C + H, especialmente destinados a ensilaje. Lo que hace una década era un pequeño nicho, hoy en día la superficie de más de un millón de hectáreas destinadas a silaje de maíz ha generado en algunas empresas la necesidad de separar las líneas de investigación por destino, es decir grano y silaje.

Al comparar los resultados de lotes y parcelas es posible afirmar que no se está expresando el máximo potencial de los híbridos de maíz en los establecimientos, tanto en el rendimiento de la biomasa como en su calidad. Esto se debe a la diferencia de mayor potencial generada en parcelas donde es posible realizar un óptimo manejo agrícola en comparación con el de lotes de productores ganaderos. Este resultado demuestra que es posible reducir las diferencias en la medida que se ajusten las técnicas de manejo.

Existe amplia variabilidad en la aptitud forrajera de híbridos de maíz, tanto en calidad como en rendimiento del componente caña + hojas. Esta variabilidad debería permitir separar nítidamente los genotipos de acuerdo a su destino, así como dirigir el desarrollo de líneas endocriadas capaces de producir tal diferenciación de genotipos.

Sobre la base de estos resultados, no se pudieron definir áreas o regiones con ventajas favorables y competitivas para la producción potencial de bioetanol, utilizando el componente caña + hojas de maíz como materia prima.

La estimación de rendimiento de etanol arribada en este estudio es una evaluación de la aptitud adicional que podrían adquirir el cultivo de maíz mediante la utilización del residuo postcosecha. Si bien en el país aún no está implementada la tecnología para la conversión de biomasa, el aumento de digestibilidad de la caña + hojas encontrado repercutiría positivamente en la producción de bioetanol a través de la generación secundaria del biocombustible a partir de esta fracción de la planta.

## **8. INVESTIGACIONES FUTURAS**

Se sugiere realizar el estudio de evolución de la aptitud forrajera en híbridos de maíz sobre el resto de la planta, fracción reproductiva (espiga) y planta completa; como así también sus interacciones.

Analizar la factibilidad sitio-específico de extracción de rastrojo de maíz sin afectar la conservación de los suelos. Es necesario tener en cuenta múltiples factores ambientales, agronómicos, económicos y la sustentabilidad total del sistema, en función de cada tipo de suelo, volumen de rastrojo, prácticas agrícolas, costos de insumos, etc.

También es recomendable estudiar la valorización del rastrojo y determinar la calidad óptima en su aptitud para producir etanol.

Sería importante desarrollar tecnologías sencillas y de baja escala, factibles de instalar en áreas rurales estratégicas donde sea posible la obtención de la materia prima en cantidad y poder así favorecer el desarrollo regional.

Se necesitan estudios que evalúen la factibilidad técnica, económica y ambiental de la generación de etanol a través del recurso lignocelulósico, como el rastrojo de maíz, sorgo u otros cultivos.



## 9. BIBLIOGRAFÍA

ALLO M.S., O.N. Di Marco, G.M. Parodi y L.M. Gutiérrez. 2008. Corte de dos híbridos de maíz a alturas de 15 ó 50 cm en el rendimiento del ensilaje y del rastrojo dejado por el corte alto. [http://www.alpa.org.ve/ojs/index.php/ojs\\_files/article/viewFile/596/517](http://www.alpa.org.ve/ojs/index.php/ojs_files/article/viewFile/596/517)

AGBOR V.B., N. Cicek, R. Sparling, A. Berlin & D.B. Levin. 2011. Biomass pretreatment: Fundamentals toward application. *Biotechnology Advances* 29(6), 675-685.

ALLEN M.S., K.A. O'Neil, K.A., D.G. Main & J.F. Beck. 1991. Relationships among yield and quality traits of corn hybrids for silage. *J. Dairy Sci.* 74 (Suppl. 1): 221.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. 2000. *Official Methods of Analysis*, 17th edn, Washington, DC: AOAC.

BALLESTEROS PERDICES M. 2006. Carburantes sin petróleo: Bioetanol. *Revista Investigación y Ciencia*. Nov. 06, 78-85.

BARRIÈRE Y., C. Guillet, D. Goffner & M. Pichon. 2003. Genetic variation and breeding strategies for improved cell wall digestibility in annual forage crops. A review. *Anim. Res.* 52: 193-228.

BARRIÈRE Y., D. Alber, O. Dolstra, C. Lapiere, M. Motto, A. Ordás Pérez, J. Van Waes, L. Vlaswinkel, C. Welcke & J.P. Monod. 2005. Past and prospects of forage maize breeding in Europe, I. The grass cell wall as a basis of genetic variation and future improvements in feeding value. *Maydica* 50: 259-274.

BARROS-RIOS J., A. Romani, G. Garrote & B. Ordas. 2015. Biomass, sugar and bioethanol potential of sweet corn. *GCB Bioenergy*. Volume 7. Issue 1. pp 153–160.

BENEFIELD B.C., M. Liñeiro, I.R. Ipharraguerre & J.H. Clark. 2006. NutriDense corn grain and corn silage for dairy cows. *J. Dairy Sci.* 89: 1571-1579.

BERTOIA L.M. 2009. Híbridos Graníferos o Híbridos Forrajeros ¿es lo mismo? [http://www.produccionanimal.com.ar/produccion\\_y\\_manejo\\_reservas/reservas\\_silos/134granifero\\_forrajeros.pdf](http://www.produccionanimal.com.ar/produccion_y_manejo_reservas/reservas_silos/134granifero_forrajeros.pdf)

BERTOIA L.M., R. Burak & M. Torrecillas. 2002. Identifying inbred lines capable of improving ear and stover yield and quality of superior silage maize hybrids. *Crop Science*. Vol 42. N° 2, 42:365-372.

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

BOUDET A.M. & J. Grima-Pettenati. 1996. Lignin genetic engineering. *Mol. Breed.* 2: 25-39.

BURRITT E.A., A.S. Bitmer, J.C. Street & M.J. Anderson. 1984. Correlations of phenolic acids and xylose content of cell wall with *in vitro* dry matter digestibility of three maturing grasses. *J. Dairy Sci.* 67:1209-1213.

BUXTON D.R. 1996. Quality-related characteristics of forages as influenced by plant environment and agronomic factors. *Animal Feed Science Technology*. 59:37-49

CAMARASA J.N. 2012. Evaluación de la calidad nutricional de ensilajes de maíz en novillos en terminación: respuesta productiva, digestión *in vivo* e *in situ*. Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata. Tesis de Magíster Scientiae en Producción Animal.

Evolución de la aptitud forrajera en híbridos de maíz. Su relación con la producción de etanol.

CAMARASA J.N., P.F. Barletta y O.D. Bertin. 2016. Comparación de híbridos de maíz para ensilaje en dos campañas. 2° Edición RTA Revista de tecnología agropecuaria. ISSN digital 2469-164X Vol. 10 N° 31. Pp 25-29.

CARRETE J. 2000. Maíz para silaje. Sitio Argentino de Producción Animal. [http://www.produccion-animal.com.ar/produccion\\_y\\_manejo\\_reservas/reservas\\_silos/13-maiz\\_para\\_silaje.pdf](http://www.produccion-animal.com.ar/produccion_y_manejo_reservas/reservas_silos/13-maiz_para_silaje.pdf)

CHANG V.S. & M.T. Holtzapfle. 2000. Fundamental factors affecting biomass enzymatic reactivity. Applied Biochemistry and Biotechnology 84(1). 5-37.

CHESSON A. & C.W. Forsberg. 1988. Polysaccharide degradation by rumen microorganisms. In: Hobson P.N. ed. The Rumen Microbial Ecosystem. Elsevier Applied Science, London, UK. pp. 251-284.

CHESSON A. 1993. Mechanistic models of forage cell wall degradation. In: Jung, H.G.; Buxton, D.R.; Hatfield, R.D.; Ralph, J. eds. Forage cell wall structure and digestibility. ASA-CSSA-SSSA, Madison, WI. pp. 348-376.

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

COX W. & D. Cherney. 2001. Influence of brown midrib, leafy, and transgenic hybrids on corn forage production. Agron J 93:790-796.

CRASTA O.R., W.J. Cox & J.H. Cherney. 1997. Factors affecting maize forage quality development in Northeastern USA. Agron. J. 89:251-256.

DHILLON B.S., P.A. Gurrath, E. Zimmer, M. Wermke, W.G. Pollmer & D. Klein. 1990. Analysis of diallel crosses of maize for variation and covariation in agronomic traits at silage and grain harvests. Maydica (Submitted).

DI MARCO N.O. y M.S. Aello. 2002. ¿Qué es y qué se puede esperar del silaje de maíz en el engorde de vacunos? [en línea]. <[http://www.produccionanimal.com.ar/produccion\\_y\\_manejo\\_reservas/reservas\\_silos/19-silaje\\_maiz.htm](http://www.produccionanimal.com.ar/produccion_y_manejo_reservas/reservas_silos/19-silaje_maiz.htm)> [consulta: 18 enero 2011].

DI RIENZO J.A., A.W. Guzman & F. Casanoves. 2002. A multiple comparisons method based on the distribution of the root node distance of a binary tree obtained by average linkage of the matrix of euclidean distances between treatment means. JABES 7(2). 129-142.

DI RIENZO J.A., R. Macciavelli y F. Casanoves. 2011. Modelos Lineales Mixtos. Aplicaciones en InfoStat. 1ª ed., Córdoba: Grupo Infostat, 193 p, ISBN 978-987-270045-0-6.

DÍAZ M.G. y E. Di Nucci de Bedendo. 2002. Efecto del momento de cosecha sobre la producción y calidad de silaje de maíz. Revista Argentina de Producción Animal Vol. 22. Sup. 1: 150-152.

DIEN B.S., H.G. Jung, K.P. Vogel, M.D. Casler, J.F.S. Lamb, L. Iten, R.B. Mitchell & G. Sarath. 2006. Chemical composition and response to dilute-acid pretreatment and enzymatic saccharification of alfalfa, reed canarygrass, and switchgrass. Biomass Bioenerg. 30:880-891.

DOWE N. & J. McMillan. 2008. SSF experimental protocols: lignocellulosic biomass hydrolysis and fermentation. National Renewable Energy Laboratory (NREL) Analytical Procedures 2001 [[www.nrel.gov/biomass/pdfs/42630.pdf](http://www.nrel.gov/biomass/pdfs/42630.pdf)].

DWYER L., D. Stewart, F. Glenn. 1998. Silage yields of leafy and normal hybrids. Proceedings of the 53rd Annual Corn & Sorghum Research Conference, p 193.

Evolución de la aptitud forrajera en híbridos de maíz. Su relación con la producción de etanol.

FAIREY N.A. 1980. Hybrid maturity and tie relative importance of grain and stover for the assessment of the forage potential of maize genotypes grown in marginal and non-marginal environments. *Can. J. Plant Sci.* 60: 539-545.

FREY T.J., J.G. Coors, R.D. Shaver, J.G. Lauer, D.T. Eilert & P.J. Flannery. 2004. Selection for silage quality in the Wisconsin Quality Synthetic and related maize populations. *Crop Sci.* 44:1200-1208.

GABRIELSEN B.C. 1986. Evaluation of marker cellulases for activity and capacity to degrade forage. *Agron. J.* 78:838-842.

GARCÍA STEPIEN L.E. 2012. Distribución vertical del rendimiento y la calidad forrajera en híbridos de maíz (*Zea mays* L.). Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Universidad Nacional de la Plata. Tesis de Magíster Scientiae en Ciencias Agrarias. Mención en Producción Vegetal.

GARCÍA STEPIEN L.E., M.B. Aulicino, L.M. Bertoia y M.S. Borlandelli. 2014. Variabilidad genética para la aptitud forrajera y su relación con producción de bioetanol lignocelulósico a partir del rastrojo de maíz (*Zea mays* L.). X Congreso Nacional de maíz.

GOERING H.K. & P.J. Van Soest. 1970. Forage fiber analysis (apparatus, reagents, procedures, and some applications). *Agric. Handb.* 379. USDA-ARS, U.S. Gov, Print, Office, Washington, DC.

GRABBER J.H., D.R. Mertens, H. Kim, C. Funk, F. Lu & J. Ralph. 2008. Cell wall fermentation kinetics are impacted more by lignin content and ferulate cross-linking than by lignin composition. *J Sci Food Agric.* 89:122–129. doi: 10.1002/jsfa.3418.

GRAHAM R.L., R. Nelson, J. Sheehan, R.D. Perlack & L.L. Wright. 2007. Current and potential US corn stover supplies. *Agron. Journal* 99:1-11.

GRASSO D. 2016. Bioetanol de 2ª generación en el INTA: comenzó el proyecto Babetreal-5. Disponible en: [http://inta.gob.ar/sites/default/files/bioenergia-bioetanol\\_de\\_2a\\_generacion\\_en\\_el\\_inta.pdf](http://inta.gob.ar/sites/default/files/bioenergia-bioetanol_de_2a_generacion_en_el_inta.pdf)

GUAITA M. y H. Fernández. 2005. Tablas de composición química de alimentos para rumiantes. INTA EEA Balcarce. Centro regional Buenos Aires Sur. Ediciones INTA.

HANSEY C.N., A.J. Lorenz & N. de Leon. 2010. Erratum to: Cell Wall Composition and Ruminant Digestibility of Various Maize Tissues Across Development. *Bioenerg. Res.* 3:295-304. DOI 10.1007/s12155-010-9100-8.

HATFIELD R.D. 1993. Cell wall polysaccharides interactions and degradability. In: Jung, H.G.; Buxton, D.R.; Hatfield, R.D.; Ralph, J. eds. Forage cell wall structure and digestibility. ASA-CSSA-SSSA, Madison, WI. pp. 286-313.

HONGWU W., L. Kun, H. Xiaojiao, L. Zhifang, W. Yujin & H. Changling. 2016. Genome-wide association analysis of forage quality in maize mature stalk. *BMC Plant Biology.*

HUNT C.W., W. Kezar & R. Vinande. 1992. Yield, chemical composition, and ruminal fermentability of corn whole plant, ear, and stover affected by hybrid. *J. Prod. Agric.* 5:286-290.

INTA. Base de datos climáticos período 1999 – 2014. Instituto de Clima y Agua – Centro de Investigación de Recursos Naturales - CNIA.

JACKSON L.A., G.L. Shadle, R. Zhou, J. Nakashima, F. Chen & R.A. Dixon. 2008. Improving saccharification efficiency of alfalfa stems through modification of the terminal stages of monoglignol biosynthesis. *Bioenerg Res.* 1:180–192. doi: 10.1007/s12155-008-9020-z.

Evolución de la aptitud forrajera en híbridos de maíz. Su relación con la producción de etanol.

JOHNSON J.M.F., D. Reicosky, R. Allmaras, D. Archer & W.W. Wilhelm. 2006. A matter of balance: conservation and renewable energy. *J. Soil Water Conserv.* 6: 120A–125A.

JUNG H.G., Jr.G.C. FAHEY & N.R. MERCHEN. 1983. Effects of ruminant digestion and metabolism on phenolic monomers of forages. *Brit. J. Nutr.* 50: 637-651.

JUNG H.G. & K.P. Vogel. 1986. Influence of lignin on digestibility of forage cell wall material. *J. Anim. Sci.* 62: 1703-1712.

JUNG H.G. & D.A Deetz. 1993. Cell wall lignification and degradability. In: Jung, H.G.; Buxton, D.R.; Hatfield, R.D.; Ralph, J. Eds. *Forage cell wall structure and digestibility*. ASA-CSSA-SSSA, Madison, WI. pp. 316-346.

JUNG H.G. & M.S. Allen 1995. Characteristics of plant cell walls affecting intake and digestibility of forages by ruminants. *J. Anim. Sci.* 73: 2774-2790.

KARLEN D.L., S.S. Andrews, B.J. Wienhold & J.W. Doran. 2003. Soil quality: humankind's foundation for survival. *J. Soil Water Conserv.* 58: 171–179.

LAUER J.G., J.G. Coors & P.J. Flannery. 2001. Forage Yield and Quality of Corn Cultivars Developed in Different Eras. *Crop Science* 41:1449–1455.

LORENZ A.J., J.G. Coors, N. de León, E.J. Wolfrum, B.R. Hames, A.D. Sluiter & P.J. Weimer. 2009 a. Characterization, genetic variation, and combining ability of maize traits relevant to the production of cellulosic ethanol. *Crop Science.* 49:85–98.

LORENZ A.J., R.P. Anex, A. Isci, J.G. Coors, N. de León & P.J. Weimer. 2009 b. Forage quality and composition measurements as predictors of ethanol yield from maize (*Zea mays* L.) stover. *Biotechnology for Biofuels.* 2:5.

LUSK J.W. 1978. The use of preservatives in silage productions. In M.E. McCullough (ed.) *fermentation of silage – A review*. National Feed Ingredients Association. Des Moines, IA, pp 201-232.

LYND L.R., M.S. Laser, D. Brandsby, B.E. Dale, B. Davison, R. Hamilton, M. Himmel, M. Keller, J.D. McMillan, J. Sheehan & C.E. Wyman. 2008. How biotech can transform biofuels. *Nat. Biotechnol.* 26:169–172.

MACKAY I., A. Horwell, J. Garner, J. White, J. McKee & H. Philpott. 2011. Reanalyses of the historical series of UK variety trials to quantify the contributions of genetic and environmental factors to trends and variability in yield over time. *Theor Appl Genet* 122:225-238.

MUTH Jr.D.J., K.M. Bryden & R.G. Nelson. 2013. Sustainable agricultural residue removal for bioenergy: A spatially comprehensive US national assessment. *Applied Energy* 102. 403-417.

OBA M. & M.S. Allen. 1999. Effects of brown midrib 3 mutation in corn silage on dry matter intake and productivity of high yielding dairy cows. *J Dairy Sci.* 82:135–142.

Página web Cámara Argentina de Contratistas Forrajeros (CACF).  
<http://www.ensiladores.com.ar/>

Página web de la Bolsa de Comercio de Rosario.  
<https://www.bcr.com.ar/Pages/gea/estimaProd.aspx>

Página web de las Cátedras de Cerealicultura y Manejo de Recursos Forrajeros. Facultad de Ciencias Agrarias, UNLZ. <http://www.cerealesyforrajes.com.ar>

Página web del Ministerio de Agroindustria.  
<https://datos.magyp.gob.ar/reportes.php?reporte=Estimaciones>

Página web Revista ASAGA on line.

([http://www.asaga.org.ar/index.php/es/noticias/nacionales/15-noticias/nacionales/1011-disponen-el-aumento-del-corte-de-bioetanol-en-las-naftas.html?mkt\\_hm=15&utm\\_source=email\\_marketing&utm\\_admin=11108&utm\\_medium=email&utm\\_campaign=Como\\_mejor](http://www.asaga.org.ar/index.php/es/noticias/nacionales/15-noticias/nacionales/1011-disponen-el-aumento-del-corte-de-bioetanol-en-las-naftas.html?mkt_hm=15&utm_source=email_marketing&utm_admin=11108&utm_medium=email&utm_campaign=Como_mejor)). Consulta: 15 de Abril de 2016.

PATROUILLEAU R., C. Lacoste, P. Yapura y M. Casanovas. 2006. Perspectivas de los biocombustibles en Argentina, con énfasis en el etanol de base celulósica. Fundación ArgenINTA. Unidad de coyuntura y prospectiva.

PEDERSEN J.F., K.P. Vogel & D.L. Funnell. 2005. Impact of Reduced Lignin on Plant Fitness. *Crop Sci.* 45:812–819.

PORDESIMO L.O., B.R. Hames, S. Sokhansanj & W.C. Edens. 2005. Variation in corn stover composition and energy content with crop maturity. *Biomass and Bioenergy*. Volume 28, Issue 4: 366-374.

REEVES J. 1987. Lignin and fiber compositional changes in forages over a growing season and their effects on in vitro digestibility. *J. Dairy Sci.* 70: 1583-1594.

RITCHIE S. & J.J. Hanway. 1982. How a corn plant develops. Iowa State Univ. Technol. Spec. Rep., 48 p.

ROCHA-MENESES L., M. Raud, K. Orupold & T. Kikas. 2017. Second-generation bioethanol production: A review of strategies for waste valorisation. *Agronomy Research* 15(3), 830-847.

ROMERO L.A. 2004. Calidad en forrajes conservados. Disponible en: <http://www.produccion-animal.com.ar>

ROMERO L., M. Gaggiotti, O. Bruno, E. Comerón y A. Baroni. 1999. La calidad de los silajes de maíz en campos de productores en las últimas tres campañas. EEA INTA Rafaela. Disponible en [http://www.http://rafaela.inta.gov.ar/productores97\\_98/p38.htm](http://www.http://rafaela.inta.gov.ar/productores97_98/p38.htm)

ROTH L.S., G.C. Marten, W.A. Compton & D.D. Stuthman. 1970. Genetic variation of quality traits in maize (*Zea mays* L.) forage. *Crop Sci.* 10:365–367.

RUIZ I.N. 1993. Características nutritivas de hojas verdes y secas de maíz destinado a ensilaje. *Agricultura técnica Chile.* 53(4): 356-358.

SABALLOS A., W. Vermerris, L. Rivera & G. Ejeta. 2008. Allelic association, chemical characterization and saccharification properties of *brown midrib* mutants of sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) *Bioenerg Res.* 1:193–204, doi: 10.1007/s12155-008-9025-7.

SATTLER S.E., D.L. Funnell-Harris & J.F. Pedersen. 2010. Brown midrib mutations and their importance to the utilization of maize, sorghum and pearl millet lignocellulosic tissues. *Plant Sci.* 173 (3): 229—238.

SCHENEITER O., P. Rimieri, J. Carrete, J. Camarasa, J. Peña y J. Velazco. 2012. Produciendo eficientemente para ensilar maíz. En: S. Assuero (Ed.) *Pasturas 2012. Hacia una ganadería competitiva y sustentable.* UI Balcarce, pp. 59-67.

SCHROEDER, G. F., J.C. Elizalde y J.P. Fray. 2000. Caracterización del valor nutritivo de los silajes de maíz producidos en la Provincia de Buenos Aires. *Rev. Arg. Prod. Anim.* 20 (I): 29-30.

SEARCHINGER T., R. Heimlich, R.A. Houghton, F.X. Dong, A. Elobeid, J. Fabiosa, S. Tokgoz, D. Hayes & T.H. Yu. 2008. Use of U.S. croplands for biofuels increases greenhouse gases through emissions from land-use change. *Science* 319:1238-1240.

Evolución de la aptitud forrajera en híbridos de maíz. Su relación con la producción de etanol.

SHAVER D.L. 1983. Genetics and breeding of maize with extra leaves above the ear. In Proc. of the Annual Corn and Sorghum Research Conf., 38th. 7–8 Dec. 1983. Am. Seed Trade Assoc., Washington, DC.

SNEATH P.H.A. & R.R Sokal. 1973. Numerical Taxonomy: The principles and practice of numerical classification. In: Freeman, W.H., & Co (eds.). San Francisco.

SOKAL R.R. & F.J. Rohlf. 1995. Biometry, Third ed. W.H. Freeman and Co., New York.

SPADA M. del C., R. Roasio, M. A. Brunetti y M. Steimberg. 2000. Efecto de distintos momentos de confección de silos de maíz y sorgo sobre su calidad. Rev. Arg. Prod. Anim. Vol. 20, supl. 1, Pp. 235-6.

STRUIK P. 1983. Physiology of forage maize (*Zea mays* L.) in relation to its production and quality. Dissertation, Department of Field Crops and Grassland Science, Agricultural University, Wageningen, Netherlands.

SUN Y. & J. Cheng. 2002. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review. Bioresource Technology. Vol. 83. Elsevier Press.

TEMPLETON W.D., A.D. Sluiter, K.T.K. Hayward, B.R. Hames & S.R. Thomas. 2009. Assessing corn stover composition and sources of variability via NIRS. Cellulose 16:621-639.

TERASHIMA N., K. Fukushima & K. Takabe. 1993. Comprehensive model of the lignified plant cell wall. In: Jung, H.G.; Buxton, D.R.; Hatfield, R.D.; Ralph, J. eds. Forage cell wall structure and digestibility. ASA-CSSA-SSSA, Madison, WI. pp 247-270.

TUTT M., T. Kikas & J. Olt. 2013. Influence of harvesting time on biochemical composition and glucose yield from hemp. Agronomy Research 11(1), 215-220.

USDOE, 2006. Theoretical ethanol yield calculator. United States Department of Energy, Washington, DC. [http://www1.eere.energy.gov/biomass/ethanol\\_yield\\_calculator.html](http://www1.eere.energy.gov/biomass/ethanol_yield_calculator.html)

VAN OLPHEN P., F. Santini y E. Viviani Rossi. 1998. Efecto del momento de corte sobre la producción y calidad del maíz para silaje. Rev. Arg. Prod. Anim. 18 (Sup. I): 144.

VAN SOEST P.J. 1994. Nutritional ecology of the ruminant. 2<sup>nd</sup> ed. Cornell Univ. Press. Ithaca. N.Y.

VAN SOEST P.J. & J.B. Robertson. 1980. Systems of analysis for evaluating fibrous feeds. P. 49-60. In W.J. Pigden *et al.* Proc. Intl Workshop on Standardization Anal. Meth. Feeds. Ottawa. Canada. 12-14 Mar. 1979. Unipub. New York.

VAN WAES J. 2003. Variety research for maize in Belgium and its importance for agriculture. Agro Food Ind. Hi-Tech 14: 1-6.

VANHOLME R., K. Morreel, J. Ralph & W. Boerjan. 2008. Lignin engineering. Curr Opin Plant Biol 11:278–285

VATTIKONDA M.R. & R.B Hunter. 1983. Comparison of grain yield and whole-plant silage production of recommended corn hybrids. Can. J. Plant Sci. 63: 601-609.

VELAZCO J.G. y J.N. Camarasa. 2014. Cambios en el desempeño del maíz para ensilaje a través de 18 años de evaluaciones en Pergamino. X Congreso Nacional de maíz. Actas en: <http://www.congresodemaiz.com.ar/areas/usos/CAMBIOS-EN-EL-DESEMPEÑO-DEL-MAIZ-PARA-ENSILAJE-A-TRAVES-DE-18-ANOS-DE-EVALUACIONES-EN-PERGAMINO.pdf>

VERMERRIS W., A. Saballos, G. Ejeta, N.S. Mosier, M.R. Ladisch & N.C. Carpita. 2007. Molecular breeding to enhance ethanol production from corn and sorghum stover. Crop Sci. 47:S142–S153. doi: 10.2135/cropsci2007.04.00131PB5.

WALSH M., D.G. De la Torre Daniel, H. Shapouri & S. Slinsky. 2003. Bioenergy and crop production in the United States: potencial quantities, land use changes, and economic impacts on the agricultural sector. *Environmental an Resource Economics*. 24, 313-333.

WEIMER P.J., B.S. Dien, T.L. Springer & K.P. Vogel. 2005. In vitro gas production as a surrogate measure of the fermentability of cellulosic biomass to ethanol. *Appl Microbiol Biotechnol*. 67:52-58.

WILHELM W.W., J.M.F. Johnson, D.L. Karlen & D.T. Lightle. 2007. Corn stover to sustain soil organic carbon further constrains biomass supply. *Agron J*. 99: 1665–1667.

WILHELM W.W., J.R. Hess, D.L. Karlen, J.M.F. Johnson, D.J. Muth & J.M. Baker. 2010. Balancing limiting factors and economic drivers for sustainable midwestern agricultural residue feedstock supplies. *Ind Biotechnol*. 6: 271–287.

WOLF D., J. Coors, K. Albrecht, D. Undersander & P. Carter. 1993. Forage quality of maize genotypes selected for extreme fiber concentrations. *Crop Sci* 33:1353–1359

YANASE H., D. Sato, K. Yamamoto, S. Matsuda, S. Yamamoto & K. Okamoto. 2007. Genetic engineering of *Zymobacter palmae* for production of ethanol from xylose. *Appl. Environ. Microbiol*. 73:2592–2599.

ZANNIER S. 2012. Caracterización del valor nutritivo de los silajes de maíz de la llanura pampeana y la mesopotamia argentinas [en línea]. Trabajo Final de Ingeniería en Producción Agropecuaria, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Católica Argentina. Disponible en: <http://bibliotecadigital.uca.edu.ar/repositorio/tesis/caracterizacion-valor-nutritivo-silajes.pdf>. Fecha de consulta: 26 de octubre de 2016.

ZHAO Y.L., A. Dolat, Y. Steinberger, X. Wang, A. Osman & G.H. Xie. 2009. Biomass yield and changes in chemical composition of sweet sorghum cultivars grown for biofuel. *Field Crops Research* 111. 55-64.



## ANEXO

**Tabla 14:** Medias y desvío estándar (DE) del rendimiento de materia seca (RMS; kg ha<sup>-1</sup>) y digestibilidad *in vitro* (DIV; %) de planta completa (PC) en ensayos de parcelas experimentales para el período 1999 a 2014.

| Variable                        | Media     | D.E.     |
|---------------------------------|-----------|----------|
| <b>RMS (kg ha<sup>-1</sup>)</b> | 18.485,69 | 5.377,14 |
| <b>DIV (%)</b>                  | 66,16     | 4,19     |

N = 676

**Tabla 15:** Medias y desvío estándar (DE) del rendimiento de materia seca (RMS; kg ha<sup>-1</sup>) y digestibilidad *in vitro* (DIV; %) de planta completa (PC) en ensayos de lotes producción para el período 1999 a 2014.

| Variable                        | Media    | D.E.     |
|---------------------------------|----------|----------|
| <b>RMS (kg ha<sup>-1</sup>)</b> | 18.048,2 | 5.331,46 |
| <b>DIV (%)</b>                  | 64,46    | 4,94     |

N = 2192

**Tabla 16:** Medias por año de rendimiento de materia seca (RMS; kg ha<sup>-1</sup>) y digestibilidad *in vitro* (DIV; %) de planta completa (PC) en parcelas experimentales durante el periodo 1999 – 2014.

| Año         | N° híbridos | RMS kg ha <sup>-1</sup> | DIV % |
|-------------|-------------|-------------------------|-------|
| <b>1999</b> | 31          | 11.154,8                | 63,63 |
| <b>2000</b> | 31          | 27.699,4                | 63,23 |
| <b>2001</b> | 34          | 16.568,4                | 67,08 |
| <b>2002</b> | 38          | 20.611,4                | 63,86 |
| <b>2003</b> | 34          | 17.912,7                | 67,8  |
| <b>2004</b> | 49          | 18.078,2                | 63,98 |
| <b>2005</b> | 36          | 16.365,2                | 69,39 |
| <b>2006</b> | 60          | 20.410,5                | 69,55 |
| <b>2007</b> | 46          | 12.842,8                | 65,88 |
| <b>2008</b> | 48          | 8.027,5                 | 57,54 |
| <b>2009</b> | 52          | 23.956                  | 62,03 |
| <b>2010</b> | 52          | 14.668,6                | 67,47 |
| <b>2011</b> | 43          | 18.732,8                | 65,59 |
| <b>2012</b> | 44          | 21.835,4                | 69,7  |
| <b>2013</b> | 30          | 23.763,3                | 70,46 |
| <b>2014</b> | 48          | 24.435,5                | 71,8  |



**Tabla 17:** Medias por año de rendimiento de materia seca (RMS; kg ha<sup>-1</sup>) y digestibilidad *in vitro* (DIV; %) de planta completa (PC) en lotes de producción durante el periodo 1999 – 2014.

| <b>Año</b> | <b>N°<br/>Híbridos</b> | <b>RMS<br/>kg ha<sup>-1</sup></b> | <b>DIV<br/>(%)</b> |
|------------|------------------------|-----------------------------------|--------------------|
| 1999       | 128                    | 12.998,3                          | 61,47              |
| 2000       | 110                    | 17.092,5                          | 61,49              |
| 2001       | 91                     | 19.976,8                          | 64,52              |
| 2002       | 149                    | 19.034,9                          | 61,24              |
| 2003       | 125                    | 18.268,1                          | 66,76              |
| 2004       | 120                    | 16.250,1                          | 63,09              |
| 2005       | 135                    | 17.508,4                          | 59,3               |
| 2006       | 174                    | 16.446                            | 61,4               |
| 2007       | 182                    | 16.991,3                          | 65,96              |
| 2008       | 136                    | 13.319,7                          | 64,54              |
| 2009       | 198                    | 19.236,6                          | 65,53              |
| 2010       | 125                    | 16.748,2                          | 64,78              |
| 2011       | 124                    | 19.195,9                          | 66,25              |
| 2012       | 140                    | 19.883                            | 67,77              |
| 2013       | 105                    | 22.410,7                          | 66,96              |
| 2014       | 150                    | 23.877,1                          | 69,78              |

**Tabla 18:** Comparación de modelos lineales mixtos considerando al año como variable categórica (ANVA) para cada variable de calidad (digestibilidad *in vitro*, DIV; fibra detergente neutro, FDN; fibra detergente ácido, FDA y lignina detergente ácido, LDA) y rendimiento (rendimiento de materia seca, RMS y rendimiento de etanol, RE), con y sin aplicación de Varldent, utilizando el índice de máxima verosimilitud (test L. Ratio) y nivel de significancia, en datos de parcelas experimentales.

| <b>Variable</b> | <b>Modelos</b> | <b>AIC</b> | <b>BIC</b> | <b>L. Ratio</b> | <b>p-value</b> |
|-----------------|----------------|------------|------------|-----------------|----------------|
| <b>RMS</b>      | Sin varldent   | 11.486,83  | 11.563,20  | 109,33          | <0,0001        |
|                 | Con varldent   | 11.407,50  | 11.551,25  |                 |                |
| <b>DIV</b>      | Sin varldent   | 3.137,13   | 3.213,49   | 130,50          | <0,0001        |
|                 | Con varldent   | 3.036,63   | 3.180,38   |                 |                |
| <b>FDN</b>      | Sin varldent   | 3.193,96   | 3.270,33   | 141,24          | <0,0001        |
|                 | Con varldent   | 3.082,71   | 3.226,47   |                 |                |
| <b>FDA</b>      | Sin varldent   | 2.804,85   | 2.881,22   | 143,33          | <0,0001        |
|                 | Con varldent   | 2.691,52   | 2.835,27   |                 |                |
| <b>LDA</b>      | Sin varldent   | 951,73     | 1.028,10   | 83,35           | <0,0001        |
|                 | Con varldent   | 898,38     | 1.042,13   |                 |                |
| <b>RE</b>       | Sin varldent   | 9.775,91   | 9.852,28   | 110,05          | <0,0001        |
|                 | Con varldent   | 9.695,86   | 9.839,61   |                 |                |

**Tabla 19:** Comparación de modelos lineales mixtos considerando al año como variable categórica (ANVA) para cada variable de calidad (digestibilidad *in vitro*, DIV; fibra detergente neutro, FDN; fibra detergente ácido, FDA y lignina detergente ácido, LDA) y rendimiento (rendimiento de materia seca, RMS y rendimiento de etanol, RE), con y sin aplicación de Varldent, utilizando el índice de máxima verosimilitud (test L. Ratio) y nivel de significancia, en datos de lotes de producción.

| Variable | Modelos      | AIC       | BIC       | L. Ratio | p-value |
|----------|--------------|-----------|-----------|----------|---------|
| RMS      | Sin varldent | 40.196,07 | 40.292,72 | 224,37   | <0,0001 |
|          | Con varldent | 40.001,70 | 40.183,63 |          |         |
| DIV      | Sin varldent | 12.697,50 | 12.794,15 | 369,70   | <0,0001 |
|          | Con varldent | 12.357,80 | 12.539,73 |          |         |
| FDN      | Sin varldent | 12.717,11 | 12.813,76 | 468,68   | <0,0001 |
|          | Con varldent | 12.278,43 | 12.460,35 |          |         |
| FDA      | Sin varldent | 11.657,19 | 11.753,84 | 470,11   | <0,0001 |
|          | Con varldent | 11.217,09 | 11.399,01 |          |         |
| LDA      | Sin varldent | 5.786,38  | 5.883,03  | 339,01   | <0,0001 |
|          | Con varldent | 5.477,37  | 5.659,30  |          |         |
| RE       | Sin varldent | 34.760,26 | 34.856,91 | 279,22   | <0,0001 |
|          | Con varldent | 34.511,04 | 34.692,97 |          |         |

**Tabla 20:** Comparación de modelos lineales mixtos considerando al año como covariable (regresión) para cada variable de calidad (digestibilidad *in vitro*, DIV; fibra detergente neutro, FDN; fibra detergente ácido, FDA y lignina detergente ácido, LDA) y rendimiento (rendimiento de materia seca, RMS y rendimiento de etanol, RE), con y sin aplicación de Varldent, utilizando el índice de máxima verosimilitud (test L. Ratio) y nivel de significancia, en datos de parcelas experimentales para el período 1999 - 2014.

| Variable | Modelos      | AIC       | BIC       | L. Ratio | p-value |
|----------|--------------|-----------|-----------|----------|---------|
| RMS      | Sin varldent | 12.432,33 | 12.445,87 | 308,98   | <0,0001 |
|          | Con varldent | 12.153,35 | 12.234,58 |          |         |
| DIV      | Sin varldent | 3.907,40  | 3.920,94  | 355,99   | <0,0001 |
|          | Con varldent | 3.601,40  | 3.682,64  |          |         |
| FDN      | Sin varldent | 4.104,11  | 4.117,65  | 585,18   | <0,0001 |
|          | Con varldent | 3.548,93  | 3.630,17  |          |         |
| FDA      | Sin varldent | 3.351,62  | 3.365,16  | 307,48   | <0,0001 |
|          | Con varldent | 3.074,14  | 3.155,38  |          |         |
| LDA      | Sin varldent | 1.925,47  | 1.939,01  | 371,23   | <0,0001 |
|          | Con varldent | 1.584,24  | 1.665,48  |          |         |
| RE       | Sin varldent | 10.728,00 | 10.741,54 | 307,15   | <0,0001 |
|          | Con varldent | 10.450,85 | 10.532,09 |          |         |

**Tabla 21:** Comparación de modelos lineales mixtos considerando al año como covariable (regresión) para cada variable de calidad (digestibilidad *in vitro*, DIV; fibra detergente neutro, FDN; fibra detergente ácido, FDA y lignina detergente ácido, LDA) y rendimiento (rendimiento de materia seca, RMS y rendimiento de etanol, RE), con y sin aplicación de Varldent, utilizando el índice de máxima verosimilitud (test L. Ratio) y nivel de significancia, en datos de parcelas experimentales para el período 2009 - 2014.

| Variable | Modelos      | AIC      | BIC      | L. Ratio | p-value |
|----------|--------------|----------|----------|----------|---------|
| RMS      | Sin varldent | 4.821,95 | 4.832,72 | 38,48    | <0,0001 |
|          | Con varldent | 4.793,48 | 4.822,18 |          |         |
| DIV      | Sin varldent | 1.390,22 | 1.400,99 | 47,30    | <0,0001 |
|          | Con varldent | 1.352,93 | 1.381,63 |          |         |
| FDN      | Sin varldent | 1.804,47 | 1.815,23 | 354,71   | <0,0001 |
|          | Con varldent | 1.459,76 | 1.488,46 |          |         |
| FDA      | Sin varldent | 1.141,79 | 1.152,55 | 17,48    | 0,0037  |
|          | Con varldent | 1.134,31 | 1.163,00 |          |         |
| LDA      | Sin varldent | 702,78   | 713,54   | 76,85    | <0,0001 |
|          | Con varldent | 635,92   | 664,62   |          |         |
| RE       | Sin varldent | 4.114,61 | 4.125,37 | 7,06     | 0,2166  |
|          | Con varldent | 4.117,56 | 4.146,25 |          |         |

**Tabla 22:** Comparación de modelos lineales mixtos considerando al año como covariable (regresión) para cada variable de calidad (digestibilidad *in vitro*, DIV; fibra detergente neutro, FDN; fibra detergente ácido, FDA y lignina detergente ácido, LDA) y rendimiento (rendimiento de materia seca, RMS y rendimiento de etanol, RE), con y sin aplicación de Varldent, utilizando el índice de máxima verosimilitud (test L. Ratio) y nivel de significancia, en datos de lotes de producción para el período 1999 - 2014.

| Variable | Modelos      | AIC       | BIC       | L. Ratio | p-value |
|----------|--------------|-----------|-----------|----------|---------|
| RMS      | Sin varldent | 40.978,69 | 40.995,77 | 189,48   | <0,0001 |
|          | Con varldent | 40.819,21 | 40.921,66 |          |         |
| DIV      | Sin varldent | 13.896,95 | 13.914,03 | 412,70   | <0,0001 |
|          | Con varldent | 13.514,26 | 13.616,71 |          |         |
| FDN      | Sin varldent | 14.472,49 | 14.489,56 | 1173,82  | <0,0001 |
|          | Con varldent | 13.328,67 | 13.431,12 |          |         |
| FDA      | Sin varldent | 12.539,29 | 12.556,36 | 545,08   | <0,0001 |
|          | Con varldent | 12.024,21 | 12.126,66 |          |         |
| LDA      | Sin varldent | 7.077,83  | 7.094,90  | 589,59   | <0,0001 |
|          | Con varldent | 6.518,24  | 6.620,69  |          |         |
| RE       | Sin varldent | 35.739,43 | 35.756,50 | 251,21   | <0,0001 |
|          | Con varldent | 35.518,22 | 35.620,67 |          |         |

**Tabla 23:** Comparación de modelos lineales mixtos considerando al año como covariable (regresión) para cada variable de calidad (digestibilidad *in vitro*, DIV; fibra detergente neutro, FDN; fibra detergente ácido, FDA y lignina detergente ácido, LDA) y rendimiento (rendimiento de materia seca, RMS y rendimiento de etanol, RE), con y sin aplicación de Varldent, utilizando el índice de máxima verosimilitud (test L. Ratio) y nivel de significancia, en datos de lotes de producción para el período 2009 - 2014.

| Variable | Modelos      | AIC       | BIC       | L. Ratio | p-value |
|----------|--------------|-----------|-----------|----------|---------|
| RMS      | Sin varldent | 15.722,82 | 15.737,02 | 45,07    | <0,0001 |
|          | Con varldent | 15.687,75 | 15.725,62 |          |         |
| DIV      | Sin varldent | 5.285,19  | 5.299,39  | 64,42    | <0,0001 |
|          | Con varldent | 5.230,77  | 5.268,63  |          |         |
| FDN      | Sin varldent | 5.373,88  | 5.388,08  | 214,09   | <0,0001 |
|          | Con varldent | 5.169,79  | 5.207,66  |          |         |
| FDA      | Sin varldent | 4.967,33  | 4.981,53  | 137,40   | <0,0001 |
|          | Con varldent | 4.839,93  | 4.877,80  |          |         |
| LDA      | Sin varldent | 2.826,14  | 2.840,34  | 86,76    | <0,0001 |
|          | Con varldent | 2.749,38  | 2.787,25  |          |         |
| RE       | Sin varldent | 13.666,95 | 13.681,15 | 41,97    | <0,0001 |
|          | Con varldent | 13.634,98 | 13.672,84 |          |         |

**Tabla 24:** Comparación de modelos lineales mixtos considerando el cluster por año como variable categórica para cada variable de calidad (digestibilidad *in vitro*, DIV; fibra detergente neutro, FDN; fibra detergente ácido, FDA y lignina detergente ácido, LDA) y rendimiento (rendimiento de materia seca, RMS y rendimiento de etanol, RE), con y sin aplicación de Varldent, utilizando el índice de máxima verosimilitud (test L. Ratio) y nivel de significancia, en datos de parcelas experimentales.

| Variable | Modelos      | AIC       | BIC       | L. Ratio | p-value |
|----------|--------------|-----------|-----------|----------|---------|
| RMS      | Sin varldent | 12.108,89 | 12.131,44 | 49,94    | <0,0001 |
|          | Con varldent | 12.064,96 | 12.101,04 |          |         |
| DIV      | Sin varldent | 3.671,18  | 3.693,74  | 32,22    | <0,0001 |
|          | Con varldent | 3.644,96  | 3.681,04  |          |         |
| FDN      | Sin varldent | 3.487,34  | 3.509,89  | 24,06    | <0,0001 |
|          | Con varldent | 3.469,29  | 3.505,37  |          |         |
| FDA      | Sin varldent | 3.011,77  | 3.034,32  | 31,94    | <0,0001 |
|          | Con varldent | 2.985,83  | 3.021,92  |          |         |
| LDA      | Sin varldent | 1.465,27  | 1.487,82  | 60,79    | <0,0001 |
|          | Con varldent | 1.410,48  | 1.446,56  |          |         |
| RE       | Sin varldent | 10.337,72 | 10.360,27 | 49,03    | <0,0001 |
|          | Con varldent | 10.294,69 | 10.330,77 |          |         |

**Tabla 25:** Comparación de modelos lineales mixtos considerando el cluster por año como variable categórica para cada variable de calidad (digestibilidad *in vitro*, DIV; fibra detergente neutro, FDN; fibra detergente ácido, FDA y lignina detergente ácido, LDA) y rendimiento (rendimiento de materia seca, RMS y rendimiento de etanol, RE), con y sin aplicación de Varldent, utilizando el índice de máxima verosimilitud (test L. Ratio) y nivel de significancia, en datos de lotes de producción.

| Variable | Modelos      | AIC       | BIC       | L. Ratio | p-value |
|----------|--------------|-----------|-----------|----------|---------|
| RMS      | Sin varldent | 40.590,68 | 40.619,13 | 28,62    | <0,0001 |
|          | Con varldent | 40.568,06 | 40.613,59 |          |         |
| DIV      | Sin varldent | 12.883,77 | 12.912,23 | 132,85   | <0,0001 |
|          | Con varldent | 12.756,93 | 12.802,46 |          |         |
| FDN      | Sin varldent | 14.327,59 | 14.356,04 | 81,67    | <0,0001 |
|          | Con varldent | 14.251,92 | 14.297,45 |          |         |
| FDA      | Sin varldent | 11.823,50 | 11.851,95 | 176,28   | <0,0001 |
|          | Con varldent | 11.653,21 | 11.698,74 |          |         |
| LDA      | Sin varldent | 6.242,79  | 6.271,25  | 138,95   | <0,0001 |
|          | Con varldent | 6.109,84  | 6.155,37  |          |         |
| RE       | Sin varldent | 35.248,48 | 35.276,93 | 63,50    | <0,0001 |
|          | Con varldent | 35.190,98 | 35.236,51 |          |         |

**Tabla 26:** Comparación de modelos lineales mixtos considerando el cluster por ambientes como variable categórica para cada variable de calidad (digestibilidad *in vitro*, DIV; fibra detergente neutro, FDN; fibra detergente ácido, FDA y lignina detergente ácido, LDA) y rendimiento (rendimiento de materia seca, RMS y rendimiento de etanol, RE), con y sin aplicación de Varldent, utilizando el índice de máxima verosimilitud (test L. Ratio) y nivel de significancia, en datos de lotes de producción.

| Variable | Modelos      | AIC       | BIC       | L. Ratio | p-value |
|----------|--------------|-----------|-----------|----------|---------|
| RMS      | Sin varldent | 40.153,11 | 40.181,56 | 128,08   | <0,0001 |
|          | Con varldent | 40.031,03 | 40.076,56 |          |         |
| DIV      | Sin varldent | 12.030,42 | 12.058,87 | 62,92    | <0,0001 |
|          | Con varldent | 11.973,50 | 12.019,03 |          |         |
| FDN      | Sin varldent | 13.896,99 | 13.925,44 | 479,04   | <0,0001 |
|          | Con varldent | 13.423,94 | 13.469,47 |          |         |
| FDA      | Sin varldent | 10.735,01 | 10.763,46 | 38,84    | <0,0001 |
|          | Con varldent | 10.702,17 | 10.747,70 |          |         |
| LDA      | Sin varldent | 5.480,37  | 5.508,83  | 58,43    | <0,0001 |
|          | Con varldent | 5.427,95  | 5.473,48  |          |         |
| RE       | Sin varldent | 34.654,75 | 34.638,21 | 147,19   | <0,0001 |
|          | Con varldent | 34.513,57 | 34.559,09 |          |         |