

**ASOCIACIÓN ENTRE EL RENDIMIENTO DE BIOETANOL DE HIBRIDOS DE
MAÍZ Y SUS LÍNEAS PARENTALES**

Trabajo Final de Grado
del alumno

ANDREA PEÑAS BALLESTEROS

Este trabajo ha sido presentado como requisito
para la obtención del título de

Licenciado en Genética

Carrera

UNNOBA

Reforma Universitaria
Licenciatura en Genética

NOROESTE BUENOS AIRES

**Escuela de Ciencias Agrarias, Naturales y Ambientales.
Universidad Nacional del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires.**

Pergamino, 13 de marzo de 2018

**ASOCIACIÓN ENTRE EL RENDIMIENTO DE BIOETANOL DE HIBRIDOS DE
MAÍZ Y SUS LÍNEAS PARENTALES**

Trabajo Final de Grado
del alumno

ANDREA PEÑAS BALLESTEROS

Aprobada por el Tribunal Evaluador

(Nombre y Apellido)
Evaluador

(Nombre y Apellido)
Evaluador

(Nombre y Apellido)
Evaluador

(Nombre y Apellido)
Co-Director

(Guillermo Eyhérbide)
Director

**Escuela de Ciencias Agrarias, Naturales y Ambientales,
Universidad Nacional del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires**

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	5
1.1 MARCO ACTUAL.....	5
1.2 CARACTERÍSTICAS DEL MAÍZ.....	5
1.3 CARACTERÍSTICAS DEL ALMIDON.....	6
1.4 PROCESOS PARA LA SÍNTESIS DE ETANOL.....	7
1.5 CO-PRODUCTOS DE LA SÍNTESIS DE ETANOL.....	8
1.6 CONTEXTO INTERNACIONAL Y NACIONAL DE LA PRODUCCIÓN DE ETANOL.....	10
1.6.1 NIVEL INTERNACIONAL.....	10
1.6.2 NIVEL NACIONAL.....	10
1.6.3 PLANTAS PRODUCTORAS DE ETANOL.....	11
1.6.4 MARCO LEGAL EN NUESTRO PAÍS.....	11
1.6.5 SITUACIÓN AMBIENTAL.....	12
1.7 PROBLEMÁTICA DE ESTUDIO.....	13
1.8 DISEÑOS GENÉTICOS.....	14
2. HIPÓTESIS.....	15
3. OBJETIVOS.....	15
3.1 OBJETIVOS GENERALES.....	15
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	15
4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	16
4.1 MATERIAL VEGETAL.....	16
4.2 DISEÑO EXPERIMENTAL.....	16
4.3 DETERMINACIONES ANALÍTICAS DE CALIDAD DE GRANO.....	17
4.3.1 RENDIMIENTO DE ETANOL Y CONTENIDO DE PROTEINA MEDIANTE NIRS (Near Infrared Reflectance Spectroscopy).....	17
4.3.2 CONTENIDO DE ALMIDÓN MEDIANTE POLARIMETRÍA.....	18
4.3.3 CONTENIDO DE ACEITE MEDIANTE RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR RESUELTA EN EL TIEMPO.....	18
4.3.4 COMPOSICIÓN DE ÁCIDOS GRASOS DEL GERMEN DEL GRANO DE MAÍZ UTILIZANDO CROMATOGRAFÍA GASEOSA.....	19
4.3.5 PROPIEDADES TÉRMICAS DEL ALMIDÓN: GELATINIZACIÓN Y RETROGRADACIÓN.....	20
4.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS.....	22
4.4.1 ANÁLISIS GENÉTICO.....	23
5. RESULTADOS.....	25
5.1 EVALUACIÓN DE RENDIMIENTO DE ETANOL.....	25

5.2 RELACIÓN DEL RENDIMIENTO DE ETANOL CON CARACTERÍSTICAS DE CALIDAD DEL GRANO.....	27
5.2.1 PROPIEDADES TÉRMICAS DE ALMIDÓN.....	35
5.3 ESTIMACIÓN DE PARÁMETROS GENÉTICOS.....	36
5.3.1 APTITUD COMBINATORIA GENERAL Y ESPECIFICA.....	36
5.3.2 ESTIMACION DE LA HEREDABILIDAD MEDIANTE COMPONENTES DE VARIANZA.....	39
6. DISCUSIÓN.....	41
7. CONCLUSION.....	45
8. BIBLIOGRAFÍA.....	46
9. RESUMEN.....	59
10. ANEXOS.....	60

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Marco actual

Durante los últimos siglos, la población mundial ha crecido constantemente, con un inevitable aumento en el consumo de energía debido a la industrialización de los países. El petróleo crudo ha sido el principal recurso para satisfacer la creciente demanda energética (Bajpai, 2013). Como consecuencia de la utilización masiva de este recurso, se han originado dos problemas significativos: la reducción de las reservas y el aumento de las emisiones de gases que se ha asociado con el calentamiento global. La intensificación de la producción de combustibles alternativos derivados de materia orgánica, tales como biodiesel, biomasa y bioetanol es una opción que aporta una solución parcial (Hernández *et al.*, 2009).

Se denomina biocombustible a cualquier combustible alternativo que deriva de material orgánico, como cultivos energéticos (maíz, trigo, caña de azúcar, remolacha azucarera, entre otros), residuos de cultivos (paja de arroz, cáscara de arroz, rastrojo y mazorcas de maíz), o residuos de biomasa (de alimentos, producción animal, madera y otros) (Bajpai, 2013).

Los procesos de tecnología de primera generación producen bioetanol a partir de azúcares (un dímero de los monosacáridos glucosa y fructosa) y almidones ricos en polisacáridos de cultivos como el sorgo y el maíz. Los azúcares pueden ser convertidos en etanol directamente, pero el almidón debe ser previamente hidrolizado en azúcares fermentables por la acción de enzimas hidrolíticas (Himmel *et al.*, 2007).

1.2. Características del maíz

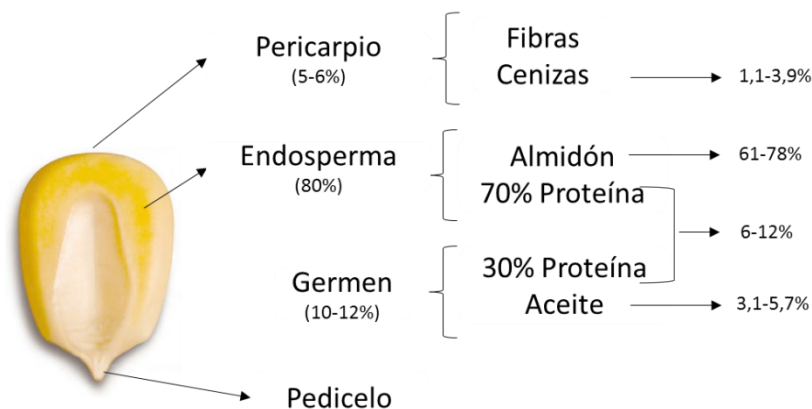
El maíz (*Zea mays L.*), por ser una especie con metabolismo C4, es eficiente en la captación y provisión de energía a través del almacenamiento de moléculas de carbohidratos complejos, siendo una de las fuentes más abundantes y económicas de almidón, que puede ser utilizado como materia prima en la obtención de biocombustibles (Taylor *et al.*, 2010).

La calidad del grano de maíz depende de su constitución física, de su textura y dureza, y de su composición química, el valor nutricional y las propiedades tecnológicas. La importancia relativa de estas características depende del destino en el sistema de producción (INTA, 2006).

La estructura del grano de maíz está conformada por el endosperma, el germen y el pericarpio, los cuales representan aproximadamente un 80%, 10-12% y 5- 6% del peso seco del grano, respectivamente (Álvarez, 2006).

Los granos contienen almidón en un 61-78% y en menor proporción proteínas (6-12%), aceite (3,1-5,7%), cenizas (1,1-3,9%) y azúcares libres (1-3%) (Watson, 2003). En el pericarpio, están concentradas las fibras y cenizas, en el germen se encuentran altos niveles de aceite y proteína, mientras que el endosperma contiene todo el almidón y al menos el 70% de la proteína total (Rooney *et al.*, 2004; Lee, 2009) (Figura 1.1.). El almidón del grano de maíz es la base de la producción de etanol a partir de grano (Wang *et al.*, 2008; Ramchandran *et al.*, 2015; Srichuwong *et al.*, 2010).

Figura 1.1. Composición química de las partes estructurales del grano de maíz.



1.3. Características del almidón

El almidón consiste de dos polisacáridos, la amilosa y la amilopectina. La amilosa posee largas cadenas lineales de unidades de glucosa, con algunas ramificaciones y la amilopectina es también un polímero de glucosa, pero con más ramificaciones y mayor peso molecular. La mayoría de los almidones contienen

aproximadamente 20 a 30% de amilosa, siendo la amilopectina el porcentaje restante, dependiendo de la especie vegetal (Geissman, 1973; McMurry, 2012). La relación amilosa/amilopectina del almidón en el maíz afecta sus propiedades funcionales (Eyhérbide *et al.*, 2005).

En el endosperma de los cereales, el almidón está en forma de gránulos de varios tamaños. Cuando los gránulos se calientan en presencia de agua, se altera su orden molecular (Eyhérbide, 2007) en un proceso denominado gelatinización donde el almidón cambia de una forma semi-cristalina (no digerible) a una forma amorfa (digerible) (Tester y Debon, 2000).

El fenómeno opuesto es la retrogradación, que ocurre tras el añejamiento de los geles de almidón. Los polímeros solubles y los fragmentos insolubles se reasocian después del calentamiento (Atwell *et.al*, 1988). Eventualmente se forman cristales con un incremento gradual en la rigidez. Este proceso ocurre en dos fases: una rápida gelificación de la amilosa por la formación de segmentos de dobles hélices y una lenta recristalización de las cadenas cortas de amilopectina (Sandoval y col., 2004).

La biodisponibilidad puede diferir entre los cultivares de granos, afectando el rendimiento de etanol (Moorthy, 2002). La digestibilidad del almidón se ha asociado con diversos factores tales como su procesamiento, el uso de enzimas hidrolíticas, la relación amilosa/amilopectina (Rooney y Pflugfelder, 1986; Naidu *et. al.*, 2007), el contenido de proteína, lípidos y otros componentes del grano (Zhan *et. al.* 2003; Svihus *et al.*, 2005; Wu *et. al.*, 2007). Además, se ve afectada por el tamaño, área superficial y estructuras del granulo de almidón (Tester *et al.*, 2004; Svihus *et al.*, 2005).

1.4. Procesos para la síntesis de etanol

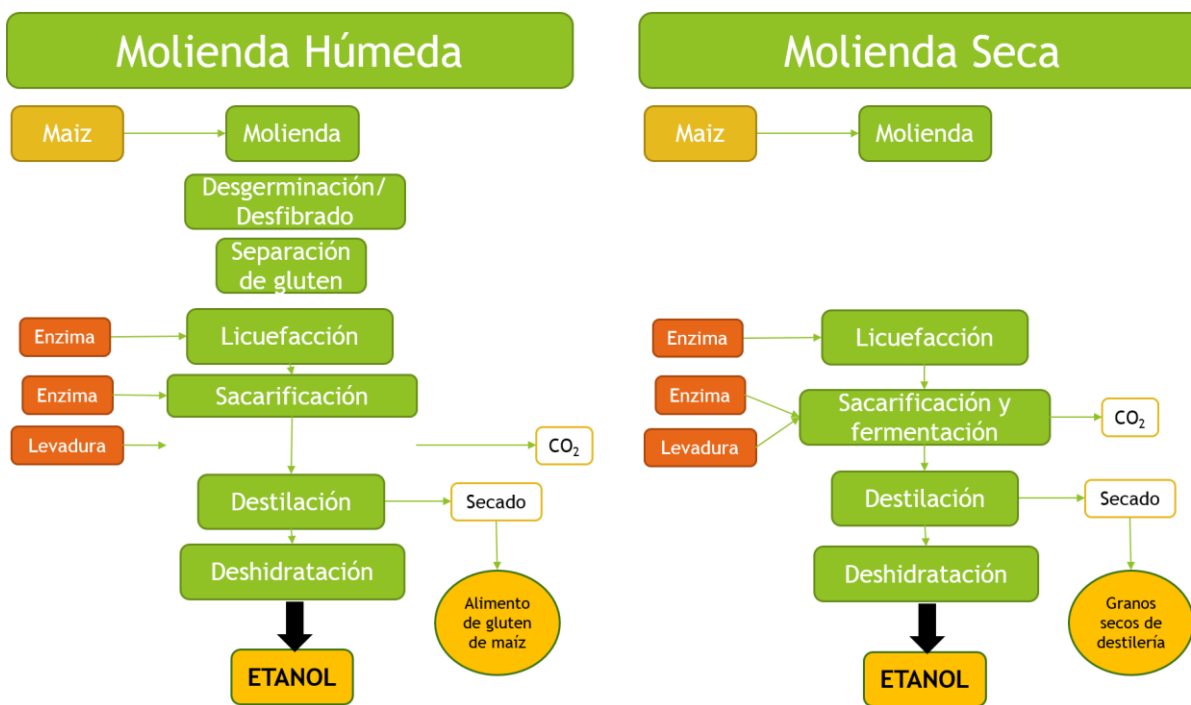
El etanol que se produce a partir de granos de maíz, puede ser obtenido mediante dos tipos de procesos: molienda húmeda y molienda seca (Figura 1.2)

En el primer caso, el germen se retira del grano y es destinado a la extracción de aceite. La harina restante se añade a la fibra para formar el gluten de maíz. Luego,

se separa la solución de los sólidos, y los azúcares solubilizados mediante la fermentación se convierten en etanol.

En cambio, en la molienda seca, el maíz limpio se muele y se mezcla con agua para formar una pasta, ésta se somete a cocción y se adicionan enzimas hidrolíticas para transformar el almidón en azúcares, en un proceso llamado sacarificación. A continuación, se produce la fermentación mediante el agregado de levadura, produciendo una mezcla que se destila y finalmente se deshidrata para obtener etanol como producto final. Los sólidos que quedan luego de la destilación son utilizados en la producción de granos secos de destilería con valor proteico y se venden como un suplemento alimenticio para animales (Bothast y Schlicher, 2014).

Fig.1.2 Procesos para la síntesis de etanol



Adaptado de Bothast and Schlicher, 2014

1.5. Co-productos de la síntesis de etanol

El 90% del etanol producido en la actualidad proviene del proceso de molienda seca y el 10% de molienda húmeda (*Renewable Fuels Association, 2017(a)*). Ambos procesos emplean sólo la porción del grano de maíz que contiene el

almidón. El resto de proteína, grasa, fibra y otros componentes nutricionales permanecen disponibles para su uso como alimento para animales (Bothast y Schlicher, 2014).

Los lípidos son una de las principales fuentes para la provisión de ácidos grasos y energía en la nutrición humana. El aceite extraído de la fibra de maíz es de especial interés debido a su efecto reductor del colesterol (Ostlund *et al.*, 2002).

El aceite de maíz contiene principalmente ácidos grasos poliinsaturados, linoleico y linolénico, que regulan el colesterol en sangre y la presión arterial (O'Brien 2009). El consumo de aceite de maíz en la industria no alimentaria es muy bajo. Las porciones pequeñas se utilizan para resina, plásticos, lubricantes y otros aceites industriales. También pequeñas porciones de aceite de maíz de alta pureza se utilizan en la industria farmacéutica. La extracción de lípidos de maíz y su procesamiento a productos adecuados puede conducir a un aumento de los ingresos de las plantas de etanol. (Ondáš, V, *et al.*, 2011)

Los componentes restantes de fibra, gluten y almidón se segregan aún más y se venden como alimento de gluten de maíz (CGF) o harina de gluten de maíz (CGM)

Estos co-productos ricos en nutrientes son destinados al mercado vacuno, porcino, aviar y pesquero (Popp *et al.*, 2016).

El gluten de maíz se destina principalmente a la alimentación de ganado lechero y de carne, mientras que la harina de gluten se utiliza en nutrición de una gran variedad de especies. Esta presenta una concentración muy alta de proteína y se usa para comida para mascotas (Wisner, 2015; *Renewable Fuels Association*, 2017). Los co-productos de la producción de etanol de cereales son un componente cada vez más importante y valioso del sector de los biocombustibles y del mercado mundial de alimentos. (Popp *et al.*, 2016) colaborando con la rentabilidad del proceso.

1.6. Contexto internacional y nacional de la producción de etanol

1.6.1. Nivel internacional

La Asociación de Combustibles Renovables (RFA, por sus siglas en inglés, *Renewable Fuels Association*) creada en 1981 es la principal asociación comercial de la industria del etanol de Estados Unidos. Trabaja para promover el desarrollo, la producción y uso de etanol como combustible renovable. Es capaz de proporcionar información de y para la industria, ya que además está integrada por otros organismos relevantes en la temática, tales como el Congreso, las agencias gubernamentales federales y estatales, los vendedores de combustible, socios estratégicos, los medios de comunicación, entre otros. (*Renewable Fuels Association*, 2016).

A nivel mundial, la Asociación de Combustibles Renovables informa que el país con la mayor producción de bioetanol durante el año 2016 fue Estados Unidos con un total de 58 millones de m³ de etanol, seguido por Brasil con un volumen de 27,61 millones de m³. Por último, entre los tres mejores se ubicó la Unión Europea con 5,21 millones de galones. Nuestro país ocupó el séptimo lugar, permaneciendo en el mismo puesto que en 2015, año en el cual los mayores productores fueron los mismos: Estados Unidos (56,05 millones de m³), Brasil (26,84 millones de m³) y Europa (5,25 millones de m³) (*Renewable Fuels Association*, 2017b).

1.6.2. Nivel nacional

A nivel nacional, el *Instituto Nacional de Estadística y Censos* de la República Argentina (INDEC) informa que hasta el 2011, la producción de bioetanol, estimada en 173.623 m³, provenía exclusivamente de la caña de azúcar. A partir del año 2012, se comienza a observar una producción conjunta de etanol a partir de caña de azúcar y de maíz, siendo los niveles de producción de este último notablemente menores (estimación de 250.489 m³ de etanol producido, 229.989 m³ provenientes de caña de azúcar, 20.500 m³ de maíz). Esta situación se ha revertido: durante el año 2016, la producción total de etanol fue de 889.948 m³ de

los cuales el 55,04% (489.839 m³) fueron obtenidos de maíz, los restantes de caña de azúcar (INDEC, 2017).

En nuestro país, también existen asociaciones que promueven el desarrollo sustentable de los biocombustibles. Una de estas entidades es la Asociación Argentina de Biocombustibles e Hidrógeno (AABH). Fue constituida el 15 de febrero de 2006, con el objetivo de promover el desarrollo sustentable de los biocombustibles en nuestro país. Esta entidad, sin fines de lucro, se encarga de realizar estudios científicos y tecnológicos, jornadas, seminarios y otras actividades. Además, colabora permanentemente con el Ministerio de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos de la Nación (Enciclopedia de Ciencias y Tecnologías en Argentina, 2018)

1.6.3. Plantas productoras de etanol

Argentina tiene 14 plantas importantes elaboradoras de etanol con una capacidad de producción anual conjunta de 965.350 m³/año. Hay 5 plantas que obtienen etanol en base a maíz: Promaíz (ubicada en la localidad de Alejandro Roca, Provincia de Córdoba), el cual es un emprendimiento de Bunge y Aceitera Gral Deheza; ACA Bio (Villa María. Provincia de Córdoba); Diaser (Provincia de San Luis); Bio 4 en Río Cuarto (Córdoba) y Vicentín (en Avellaneda, Provincia de Santa Fe). Estas plantas están en condiciones de producir cerca de 514.500 m³ de etanol por año. Las 9 plantas restantes utilizan caña de azúcar y la producción teórica es de 450.850 m³ por año.

Hay tres plantas con capacidades por encima de los 140 mil m³/año: Compañía Bioenergética La Florida SA (ubicada en Tucumán) que utiliza la caña de azúcar como materia prima, Promaíz y ACA Bio que emplean granos de maíz como materia prima (Bolsa de Comercio de Rosario, 2017).

1.6.4. Marco legal en nuestro país

El Ministerio de Energía y Minería dispone en el artículo 1° del decreto 543/2016 que a partir del 1° de abril de 2016, el porcentaje obligatoria de bioetanol que lleva cada litro de nafta de uso automotor a comercializarse en la Argentina incrementa

del 10 a 12 por ciento, en el marco de las Leyes N° 26.093 y 26334, distribuyéndose el volumen de Bioetanol equivalente a dicho incremento exclusivamente entre las empresas del sector sucro alcoholero del Noroeste Argentino, conforme el criterio que aquél considere pertinente para atender de la mejor manera las necesidades del mismo.

En el artículo 2° establece que el abastecimiento de Bioetanol de corte obligatorio debe realizarse en forma equitativa, procurando alcanzar el cincuenta por ciento para el sector elaborador en base a caña de azúcar y el cincuenta por ciento para el correspondiente al de maíz (Decreto 543/2016 Porcentaje obligatorio de Bioetanol. Abastecimiento, 2017)

1.6.5. Situación ambiental

La industria del etanol ha sido un importante contribuyente a la economía de los países y sus estrategias de seguridad energética, además de jugar un rol significativo en relación a cuestiones del cambio climático (Monteiro Salles-Filho *et al.*, 2016). La producción y uso de etanol como combustible doméstico pueden disminuir la dependencia del petróleo del extranjero, reducir los déficits comerciales, crear puestos de trabajo en las zonas rurales, reducir la contaminación del aire y la acumulación de dióxido de carbono. El etanol, a diferencia de la gasolina, es un combustible oxigenado que contiene 35% de oxígeno, lo que reduce las emisiones de partículas procedentes de la combustión (Bajpai, 2013)

La Convención en el Marco de las Naciones Unidas sobre el Cambio Climático (CMNUCC) entró en vigor el 21 de marzo de 1994, reconociendo que el problema del cambio climático es real. En 1997, se aprueba el Protocolo de Kyoto, como primera adhesión a las propuestas de la Convención, comprometiendo a los países industrializados a estabilizar las emisiones de gases de efecto invernadero. El Protocolo ha movilizado a los gobiernos a establecer leyes y políticas para cumplir sus compromisos, además de impulsar la creación del mercado del carbono (*United Nations Framework Convention on Climate Change*, 2016).

Argentina es uno de los países comprometidos con el Acuerdo Climático de París (22 de abril, 2016) que busca limitar las emisiones de carbono. El objetivo es que los gases emitidos equiparen a los absorbidos a partir de 2050 (cero emisiones netas), siendo el empleo de etanol en el parque automotor un gran paso (*United Nations Framework Convention on Climate Change, 2017*)

1.7. Problemática de estudio

Ante esta demanda mundial, surge la necesidad de generar cultivares especialmente desarrollados para la industria de biocombustibles, ya que los granos de maíz empleados como materia prima son obtenidos a partir de cultivares híbridos que han sido seleccionados por su alta productividad de grano por hectárea y tolerancia a factores de estrés (Eyhérbide, 2014). Actualmente no se encuentran establecidos parámetros de calidad para granos de maíz destinados a bioetanol. El desarrollo de investigaciones que aborden la problemática para lograr una economía sustentable son de primera necesidad.

Resulta necesario ampliar el grado de conocimiento sobre cuáles serían los caracteres de calidad más relevantes que inciden en el rendimiento de etanol, su matriz de correlaciones fenotípicas, la predictibilidad del comportamiento para producción de bioetanol de híbridos F1 en base al de sus líneas progenitoras y el grado de determinación genética de las variables más influyentes en el rendimiento de etanol. El grado de determinación genética, captura la proporción de variación fenotípica (VP) debido a valores genotípicos (VG) que pueden incluir efectos debidos a dominancia y epistasis, definida como VG / VP . Por otro lado, la heredabilidad en sentido estricto (h^2), estimada en base al diseño padre progenie refleja la importancia relativa (respecto de la variancia fenotípica) de la variabilidad genotípica debida a la variancia genética y la epistática de naturaleza aditiva. La heredabilidad en sentido estricto toma mayor relevancia, en los programas de selección de animales y plantas, porque la respuesta a la selección artificial (y natural) depende de la varianza genética aditiva, que es la proporción de la varianza genética que se transmite de padres a progenie, (Hill *et al.*, 2008). El conocimiento de los parámetros genéticos (medias, variancias y covariancias) y

sus estimaciones permite establecer las bases para un método de mejoramiento (Allard y Montoya, 1967).

1.8. Diseños genéticos

Los diseños genéticos permiten determinar las magnitudes de efectos y/o variancias genéticas en una población, ya sea basada en modelos fijos, como en modelos aleatorios (Ceballos, 1995).

Los diseños dialélicos de Griffing (1956) permiten estimar los componentes causales de la varianza fenotípica a través de la esperanza de los cuadrados medios de la aptitud combinatoria general (ACG) y específica (ACE). El término aptitud combinatoria general se utiliza para designar el desempeño promedio de una línea en una combinación híbrida, en cambio el término aptitud combinatoria específica se utiliza para designar aquellos casos en los que ciertas combinaciones mejoran o empeoran relativamente el rendimiento sobre la base de la media esperada para las líneas involucradas, (Sprague *and* Tatum, 1942). La ACG se relaciona con los efectos aditivos y los desvíos de dominancia de los genes y la ACE con las desviaciones de dominancia, epistasis e interacción entre loci, (Cockerham, 1963; Kambal *and* Webster, 1965; Falconer y McKay, 1996). La aptitud combinatoria es importante en el mejoramiento genético cuando se desea comparar el comportamiento de líneas con diferentes grados de diversidad genética en combinaciones híbridas, (Griffing, 1956), para luego seleccionar aquellas que reúnan características de interés sobresalientes.

2. HIPÓTESIS

Los diversos caracteres asociados al rendimiento esperable de etanol difieren en la importancia relativa de los tipos de acción génica que los controlan.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo general

Determinar la asociación genética existente en el rendimiento de bioetanol entre líneas parentales de maíz y los híbridos simples obtenidos de sus cruzamientos.

3.2. Objetivos específicos

Evaluar el rendimiento de bioetanol en los distintos híbridos simples.

Determinar la correlación del rendimiento de etanol con características de calidad del grano de líneas parentales de maíz y sus híbridos.

Estimar parámetros genéticos y el grado de determinación genética de las variables en estudio.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Material vegetal

Las muestras del material genético utilizadas para el logro de los objetivos propuestos, se obtuvieron en los ensayos de la campaña 2015/2016. En ellos se evaluaron cinco líneas endocriadas de maíz desarrolladas por INTA Pergamino, pertenecientes a distintos grupos heteróticos: LP29 (SemiFlint, Ciclo intermedio); LP214 (Semiflint, Ciclo intermedio); LP923 (Dentado, Ciclo intermedio); LP2542 (Dentado, Ciclo completo); LP661 (Semiflint; Ciclo corto) y sus respectivos híbridos F₁ : LP29 X LP661; LP29 X LP2542; LP29 X LP923; LP29 X LP214; LP214 X LP661; LP214 X LP2542; LP214 X LP923; LP923 X LP661; LP923 X LP2542; LP2542 X LP661.

Tabla 4.1. Abreviaturas para el material genético utilizado.

Abreviatura	Genotipo	Abreviatura	Genotipo	Abreviatura	Genotipo
P ₁	LP2542	H _{2x1}	LP661XLP2542	H _{4x3}	LP923XLP29
P ₂	LP661	H _{3x1}	LP29XLP2542	H _{5x1}	LP214XLP2542
P ₃	LP29	H _{3x2}	LP29XLP661	H _{5x2}	LP214XLP661
P ₄	LP923	H _{4x1}	LP923XLP2542	H _{5x3}	LP214XLP29
P ₅	LP214	H _{4x2}	LP923XLP661	H _{5x4}	LP214XLP923

4.2 Diseño experimental

El diseño experimental fue de bloques completos. A fin de evitar problemas de competencia entre plantas de diferente porte, ciclo vegetativo y vigor, se realizaron aleatorizaciones independientes para líneas e híbridos mediante el programa *Agrobase 2000*. Los experimentos constaron de dos repeticiones y se replicaron en dos ambientes durante la campaña (2015/2016), en la EEA INTA Pergamino y en el campo experimental UNNOBA, ubicado en la localidad de Junín. La configuración de las parcelas fue de cuatro surcos de 5 metros de largo espaciadas a 0,7 metros entre sí. Las muestras de granos se obtuvieron mediante polinizaciones controladas con el fin de evitar efectos de xenia debido a la

alogamia del maíz. Las fechas de siembra fueron 8 de octubre de 2015 (Pergamino) y 23 de octubre de 2015 (Junín).

Para la obtención de muestras de grano de los genotipos evaluados a campo, se polinizaron bajo sobre de papel *Kraft* doce a dieciséis individuos por surco. La cosecha de los ensayos fue realizada manualmente en madurez fisiológica. Posteriormente, las espigas se secaron a temperatura ambiente hasta humedad de equilibrio fisiológico. El material fue desgranado, rotulado y guardado en cámara.

4.3. Determinaciones analíticas de calidad del grano

Los análisis químicos fueron realizados en el Laboratorio de Calidad de Alimentos, Suelos, y Agua de la EEA Pergamino, en el sector Química Húmeda, colaborando con el personal especializado.

4.3.1 Rendimiento de etanol y contenido de proteína mediante NIRS, (*Near Infrared Reflectance Spectroscopy*), (Alegre *et al.*, 2014; Srichuwong *et al.*, 2010)

Las determinaciones NIRS de Rendimiento de etanol en base seca (ml de etanol/Kg de grano de maíz en base seca) y Proteína (% de proteína en base seca) se realizaron en un equipo Perkin Elmer (Modelo Spectrum One) por transformación de Fourier (FT_NIRS). Se escanearon todas las muestras molidas en molino refrigerado a 1 mm, colectándose sus espectros de reflectancia entre 10.000 y 4.000 cm^{-1} . Las calibraciones fueron desarrolladas por el Laboratorio de Calidad de Alimentos, Suelos y Agua de la EEA INTA Pergamino (Dra. Ana Maria Di Martino) a partir de los espectros y los datos determinados por química húmeda, utilizando análisis multivariados para la obtención de ecuaciones de calibración/predicción con software Spectrum QUANT+ v 4.51, específico del instrumental. Las ecuaciones se seleccionaron en base a la mayor variabilidad explicada para el set de calibración y de acuerdo al menor error estándar de predicción (SEP). Para el rendimiento de etanol en maíz la variancia explicada fue

de 72.64% con un error estándar de predicción de 7,121% y para el contenido de proteína de maíz la varianza explicada fue de 84,63%, con un error estándar de predicción de 0,49

4.3.2 Contenido de almidón mediante polarimetría (Norma IRAM 15859);

El contenido de almidón se determinó mediante la técnica polarimétrica de Ewers modificada (IRAM 15859:2014).

Para la extracción del almidón, se tomó una fracción de 5,0 g previamente molida a la cual se la sometió a hidrolisis con ácido clorhídrico, las proteínas fueron precipitadas con ácido fosfowolfrámico. Como control, se solubilizó 25 g de la muestra y se repitieron los pasos de hidrolisis y precipitación.

El poder rotatorio se determinó mediante un polarímetro según las indicaciones del fabricante. En última instancia, se calculó el contenido de almidón, en 100 g de muestra (en base seca) por diferencia entre los valores medidos para la muestra y el control, a partir de la siguiente formula:

$$A = \frac{(P-P')}{l \cdot [\alpha] \cdot m} \times 100 = \frac{10\,000 \cdot (P-P')}{l \cdot [\alpha] \cdot m}$$

Donde A es el contenido de almidón en gramos por cien gramos; P es el poder rotatorio total de la solución en grados sexagesimales; P' es el poder rotatorio de las sustancias activas solubles en agua en grados sexagesimales del control; l es el largo del tubo del polarímetro, en decímetros; m es la masa de la muestra, en gramos y $[\alpha]$ es la rotación específica del almidón en grados sexagesimales. A una temperatura de 20,0°C; con una longitud de onda de $\lambda=589$ nm, $[\alpha]$ es igual a 184.6°.

4.3.3 Contenido de aceite mediante resonancia magnética nuclear resuelta en el tiempo (H1RMN-RT) (ISO 10565:1998)

Las determinaciones de contenido de aceite por resonancia magnética nuclear (% de aceite en base seca) se realizaron en un equipo Oxford MQ5 calibrado por

extracción con solvente. Se escanearon muestras de grano mantenidas previamente 72 horas a 38 grados para estabilizar la humedad.

4.3.4 Composición de ácidos grasos del germen del grano de maíz de acuerdo a la metodología desarrollada y descrita por Percibaldi *et al.*, (1997) utilizando cromatografía gaseosa (AOCS Official Method Ce 2-66; 1998)

La composición acídica de los granos varía según la posición del grano en la espiga de maíz (Jellum, 1970). Por ello se determinó tomando de cada espiga polinizada manualmente 10 granos ubicados en la porción media de la misma para conformar una muestra representativa compuesta alrededor de 120 y 160 granos, por genotipo, localidad y repetición.

Se empleó la metodología descrita por Percibaldi *et al.* (1997). El aceite se extrajo a partir de 10 gérmenes de maíz por muestra ($0,20 \pm 0,05$ gramos), utilizando un mortero y 2,0 ml de hexano de calidad cromatográfica. Para la esterificación se empleó “transmetilación directa in situ con catálisis alcalina”

Para la inyección de la muestra al cromatógrafo, se procedió según manual de procedimiento para uso del cromatógrafo gaseoso Perkin Elmer Clarus 500. Los parámetros utilizados para la determinación cromatográfica fueron Temperatura horno – columna temperatura programada, con rampa de $3^{\circ}\text{C}/\text{min}$. Desde 190°C hasta 240°C mantenido durante un minuto. La temperatura del inyector fue 240°C . La temperatura del detector fue 300°C . La velocidad del gas portador fue 20 cm/segundo. El volumen de inyección fue de 1,0 μl con un tiempo de corrida de 16,67 min.

Mediante pruebas con patrones de ácidos grasos se identificó cada pico del cromatograma según los tiempos de retención característicos de cada ácido graso.

El área bajo la curva se correlaciona con la concentración total de ácidos grasos y este se calcula como porcentaje relativo al total de ácidos grasos.

4.3.5. Propiedades térmicas del almidón: gelatinización y retrogradación según se describe en Eyhérbide *et al.*, (2006);

Se utilizó el método de calorimetría diferencial de barrido sobre un sistema almidón: agua 1:2 según el procedimiento previamente desarrollado por White *et al.*, (1990) y modificado por Krieger *et al.*, (1997) y Ji *et al.*, (2004)

Se obtuvo una muestra de 5 semillas de maíz, la cual se incubó en tubos de 25 ml con tapa rosca durante 48 ± 4 horas en estufa a 45°C en presencia de 15 ml de solución al 0.45% de metabisulfito de sodio con la finalidad de ablandar el grano y romper la red proteica que rodea al gránulo de almidón. Luego se extrajo manualmente el germen y el pericarpio de cada grano utilizando una pinza histológica y un bisturí.

4.3.5.1. Extracción del almidón

Los endospermas se molieron en un homogeneizador, Ultraturrax T25 con elemento dispersor S 25 N 18 G, entre 8.000 y 12.000 r.p.m. en dos períodos de 25-30 segundos cada uno, con aproximadamente 20 ml de agua destilada. El homogeneizado se filtró en una unidad portafiltro con membrana de 30 μm removiendo con espátula. El almidón se decantó en heladera a 4° C durante aproximadamente 2 horas. Luego se retiró el sobrenadante y se repuso el líquido de enjuague, para eliminar proteínas y otros contaminantes que interfieren en el análisis. Luego de retirar el agua de lavado el almidón se secó dejando evaporar el a temperatura ambiente hasta sequedad y finalmente se llevó a estufa de circulación forzada a 28° C durante 16 hs. El almidón así purificado y seco se conservó en viales de vidrio con tapa a rosca entre 4 y 7° C.

4.3.5.2 Calorimetría Diferencial de Barrido

Se colocaron 2 a 4,5 mg de almidón purificado en una cápsula de aluminio pesados con una precisión de 0,00001. Luego, se agregó el doble del peso de la muestra en agua destilada, para formar un sistema almidón-agua de proporciones 1:2 p/v, y se mezcló con el almidón dentro de la cápsula.. La muestra se corrió en

el DSC a una velocidad de calentamiento de 10°C/minuto la cual es ampliamente utilizada para observar transiciones térmicas en alimentos (Gabbott, 2008) en el rango de temperaturas de 30 a 110°C. Los resultados se expresaron en base seca.

El análisis de todas las muestras se llevó a cabo en un equipo DSC Pyris 6 (Perkin Elmer, Massachusetts, USA) controlado por software Pyris versión 7.0-2004 (Perkin Elmer) equipado con un enfriador Stork Tronic (Perkin Elmer), líquido refrigerante (etilenglicol/agua 1:1), regulado a 5°C. Se utilizó un flujo de nitrógeno seco, cuya presión de trabajo permita una alimentación de 20 ml/min.

Luego, se conservaron las placas con muestra a 4° cerradas durante siete días para poder evaluar la retrogradación. Se repitió el análisis utilizando un gradiente de temperatura de 10 ° C/min con un rango de trabajo de 15 -90 °C

Cálculos:

Los cálculos se realizan con los siguientes datos, obtenidos de las corridas de Gelatinización y Retrogradación:

ToG= temperatura de inicio de gelatinización.

TpG= altura máxima del pico de Entalpía para gelatinización.

ΔH_G = Entalpía de gelatinización, expresada en cal/g o J/g

$RG = 2 \times (T_p - T_o) =$ Rango de gelatinización

Índice de Altura de Pico (PHI)= $\Delta H / (T_p - T_o)$

ToR= temperatura de inicio de retrogradación.

TpR= altura máxima del pico de Entalpía de retrogradación.

ΔH_R = Entalpía de retrogradación, expresada en cal/g o J/g

$RR = 2 \times (T_p - T_o) =$ Rango de retrogradación

$$\% \text{ Retrogradación (\% R)} = \Delta H_R / \Delta_G \times 100$$

4.4 Análisis estadístico de los datos

Se efectuaron análisis de variancia para cada ambiente y los análisis de variancia combinados a través de localidades. Se planteó un modelo de efectos fijos para efectuar las comparaciones de medias para híbridos y para líneas. Se presenta el modelo a continuación, el mismo se aplicó para todas las variables en estudio:

$$y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \delta_j + \beta(\delta)_{k(j)} + \alpha\delta_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

donde y_{ijk} es la respuesta del genotipo i para la localidad j ; μ es la media general; α_i es el efecto fijo del genotipo i con $i=1, \dots, g$; δ_j es el efecto fijo de la localidad j con $j=1, \dots, l$; $\beta(\delta)_{k(j)}$ es el efecto fijo de bloque k dentro de la localidad j ; $\alpha\delta_{ij}$ es el efecto fijo de la interacción del genotipo i con la localidad j ; y ε_{ijk} es el término de error aleatorio asociado a la observación y_{ijk} .

Se corrigió la heteroscedasticidad para las variables almidón, contenido de aceite y esteárico para líneas, linolénico para híbridos y palmítico y saturados para líneas e híbridos.

Los tests de comparación de medias se realizaron mediante una prueba de Fisher para rendimiento de etanol con un valor de probabilidad asociado de 0.05.

Con el fin de estimar las correlaciones fenotípicas se calculó el coeficiente de correlación de Pearson entre las variables y rendimiento de etanol.

Los componentes de varianza se obtuvieron a través del procedimiento de la máxima verosimilitud restringida (REML), mediante el siguiente modelo lineal mixto:

$$y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \delta_j + \beta(\delta)_{k(j)} + \alpha\delta_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

donde y_{ijk} es la respuesta del genotipo i para la localidad j ; μ es la media general; α_i es el efecto aleatorio del genotipo i con $i=1, \dots, g$; δ_j es el efecto fijo de la

localidad j con $j=1, \dots, l$; $\beta(\delta)_{k(j)}$ es el efecto fijo de bloque k dentro de la localidad j ; $\alpha\delta_{(ij)}$ es el efecto aleatorio de la interacción del genotipo i con la localidad j ; y ε_{ijk} es el término de error aleatorio asociado a la observación y_{ijk} .

A través de localidades:

$$H = \sigma^2_G / (\sigma^2_G + \sigma^2_{GE}/r + \sigma^2_E/(a*r))$$

Por localidad:

$$h^2 = \sigma^2_G / (\sigma^2_G + \sigma^2_E/r)$$

Donde, H es la heredabilidad en sentido amplio, σ^2_G es el componente de varianza genotípica, σ^2_{GE} es el componente de varianza de la interacción genotipo por ambiente, σ^2_E es componente de varianza ambiental, a es el número de ambientes y r es el número de repeticiones por ambiente.

Para el análisis de los datos se utilizaron los programas INFOSTAT (Di Rienzo *et al.*, 2010) y R (R, 2015).

4.4.1. Análisis genético

Con el objetivo de estimar la aptitud combinatoria (ACG) de las líneas parentales y la aptitud combinatoria específica (ACE) se llevó a cabo un diseño genético de Griffing (1956) de efectos fijos (modelo I), método IV en la cual solo se tienen en cuenta los híbridos F1 en un solo sentido sin incluir a los parentales, empleando el *software* ADG-R (2015) versión 2.0 (Rodríguez *et al.*, 2015)).

Tabla 4.2. Germoplasma: Diseño Dialélico IV de Griffing

Dialelo	P ₁ (LP2542)	P ₂ (LP661)	P ₃ (LP29)	P ₄ (LP923)	P ₅ (LP214)
P ₁ (LP2542)					
P ₂ (LP661)	H _{2X1}				
P ₃ (LP29)	H _{3X1}	H _{3X2}			
P ₄ (LP923)	H _{4X1}	H _{4X2}	H _{4X3}		
P ₅ (LP214)	H _{5X1}	H _{5X2}	H _{5X3}	H _{5X4}	

En base a los cuadrados medios (CM) de estos parámetros se determinó la contribución relativa de los efectos aditivos (ACG) y no aditivos (ACE) como el cociente de CM_{ACG} / CM_{ACE} .

A partir de los cuadrados medios se calcularon las varianzas de ACG y ACE, que permitieron estimar los componentes de varianza aditiva ($\sigma^2_A = 2 \sigma^2_{ACG}$), de dominancia ($\sigma^2_D = \sigma^2_{ACE}$) y genotípica ($\sigma^2_G = \sigma^2_A + \sigma^2_D$) para luego estimar el grado de determinación genética teórico ($H = \sigma^2_G / \sigma^2_F$) para estos genotipos en estudio, haciendo la salvedad que estos resultados no se pueden extrapolar a la población.

5. RESULTADOS

5.1 Evaluación del rendimiento de bioetanol

Los rendimientos promedios de bioetanol de los híbridos para las localidades de Pergamino y de Junín fueron $478,18 \pm 10,2$ y $470,19 \pm 7,95$ ml/kg de materia seca de maíz, respectivamente. Los valores máximos correspondieron a los híbridos H_{4x1} y H_{2x1} para Pergamino y Junín, respectivamente (Tabla 5.1.a). Los valores mínimos corresponden al híbrido H_{5x4} en ambas localidades

Los rendimientos promedios de las líneas fueron menores a los presentados por los híbridos en ambas localidades (Figura 5.1.), con un valor de $456,18 \pm 15,63$ y $456,14 \pm 13,94$ ml/kg de materia seca de maíz para Pergamino y Junín, respectivamente. El valor máximo corresponde a la línea parental P₃ y el valor mínimo a la línea parental P₅ en ambas localidades (Tabla 5.1.b)

Tabla 5.1 Rendimientos promedios de etanol (ml/kg) y rangos de variación correspondientes a 20 parcelas (dos repeticiones x 10 genotipos) para los híbridos y 10 parcelas (dos repeticiones x 5 genotipos) para las líneas en las localidades de Junín y Pergamino, y a través de localidades

a)

Localidad	Media	DE	Variancia	Min	Max
Pergamino	478,18	10,2	104,01	457,3	497,3
Junín	470,19	7,95	63,26	455,3	479,6
Perg-Junín	474,19	9,89	97,86	455,3	497,3

b)

Localidad	Media	DE	Variancia	Min	Max
Pergamino	456,18	15,63	244,33	432,2	476,8
Junín	456,14	13,94	194,24	433,8	475,9
Perg-Junín	456,16	14,41	207,75	432,2	476,8

El análisis de variancia indicó que la interacción genotipo por ambiente (IGA) no fue estadísticamente significativa, por lo que no hubo comportamiento diferencial de los híbridos y de las líneas en respuesta al cambio de ambiente en el que fueron evaluados. Sin embargo sí se encontraron diferencias significativas para los genotipos ($p < 0,0001$). Se realizó un test de comparación de medias de Fisher, tanto para los híbridos como para las líneas (Tabla 5.2 a y 5.2b).

Tabla 5.2. Comparación de rendimientos promedio de etanol (ml/kg de materia seca de maíz) para híbridos y líneas, mediante el test de comparación de media de Fisher

a)

Híbrido	Medias				
H ₄ X ₁	481,77	A			
H ₃ X ₁	480,70	A			
H ₂ X ₁	479,47	A			
H ₅ X ₁	478,85	A			
H ₄ X ₃	477,67	A	B		
H ₅ X ₃	476,12	A	B		
H ₃ X ₂	471,52		B	C	
H ₅ X ₂	467,47			C	D
H ₄ X ₂	463,57				D E
H ₅ X ₄	458,67				E

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$) con un error estándar de 2.25 ml por kg de materia seca de grano de maíz.

b)

Línea	Medias		
P ₃	473,12	A	
P ₁	467,99	A	
P ₄	453,72		B
P ₂	447,82		B
P ₅	437,62		C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$) con un error estándar de 2,83 ml por kg de materia seca de grano de maíz.

Las líneas con mayor rendimiento de etanol fueron P₃ y P₁. Se puede observar en la Tabla 5.2 que los híbridos producto del cruzamiento de la línea P₁ con otras líneas son los que tuvieron un mejor comportamiento para el rendimiento de bioetanol.

La línea con el menor rendimiento fue la línea P₅, seguida por las líneas P₂ y P₄. Los tres híbridos producto de los cruzamientos de estas tres líneas de a pares fueron los de menor rendimiento.

El R^2 de la regresión de las líneas para los híbridos fue de 0,40, indicando que el 40% de la variabilidad observada en el rendimiento de etanol en los híbridos se explica por el rendimiento de etanol de sus parentales.

Figura 5.1. Comparación del rendimiento de etanol promedio entre los híbridos y las líneas a través de localidades.

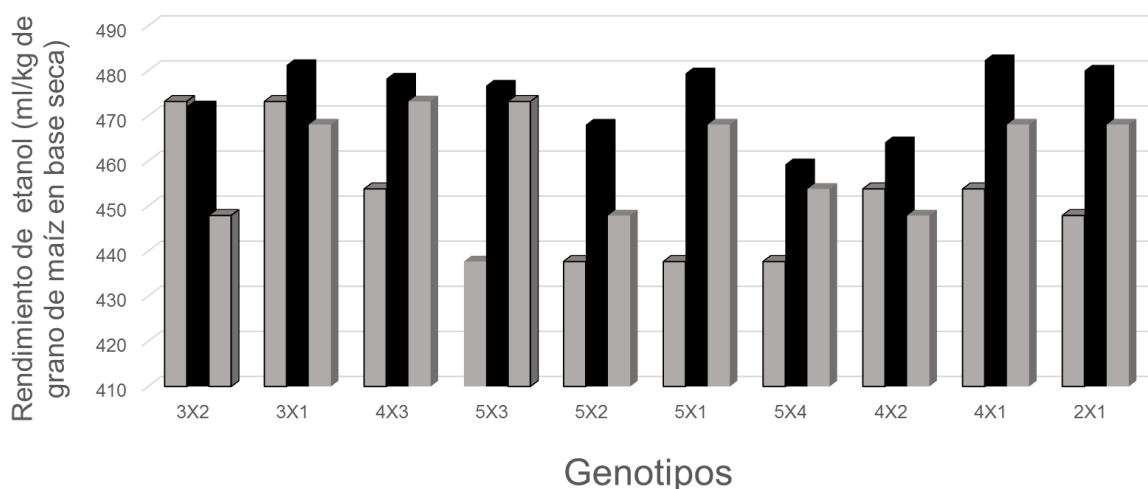


Figura 5.1. Rendimiento de etanol promedio (ml/kg de grano de maíz en base seca) de los 10 híbridos simples (barras negras) comparados con el de sus líneas parentales (barras grises)

5.2 Relación del rendimiento de etanol con características de calidad de grano

Como se mencionó anteriormente, el almidón del grano de maíz es la base de la producción de etanol (Wang *et al.*, 2008; Ramchandran *et al.*, 2015; Srichuwong *et al.*, 2010), y su biodisponibilidad puede diferir entre los cultivares de granos, afectando el rendimiento de etanol (Moorthy, 2002).

Por la importancia de esta variable, se presenta el análisis de datos aparte del resto de las variables. En la tabla 5.3.a, se muestra la estadística descriptiva para almidón de los híbridos.

Tabla 5.3.a. Contenido de almidón (porcentaje en base seca de maíz) y rangos de variación para las localidades de Junín y Pergamino correspondientes a 20 parcelas para los híbridos.

Localidad	Media	DE	Variancia	Min	Max
Pergamino	70,68	1,65	2,74	67,1	73,3
Junín	68,73	1,62	2,62	66,3	71,4
Perg-Junín	69,7	1,89	3,58	66,3	73,3

Los valores máximos corresponden al híbrido H_{4x3} en ambas localidades. Los valores mínimos corresponden a los híbridos H_{5x4} y H_{4x2}, para Pergamino y Junín, respectivamente.

En la tabla 5.3.b se presenta la estadística descriptiva de las líneas para esta variable.

Tabla 5.3.b. Contenido de almidón (porcentaje en base seca de maíz) y rangos de variación para las localidades de Junín y Pergamino correspondientes a 10 parcelas de líneas por localidad

Localidad	Media	DE	Variancia	Min	Max
Pergamino	66,73	4,08	16,65	61,8	73,2
Junín	66,43	2,89	8,34	63,4	71,7
Perg-Junín	66,58	3,44	11,86	61,8	73,2

Los valores máximos corresponden a la línea P₃ en ambas localidades, siendo la misma línea con valores máximos en rendimiento de etanol. De igual modo, ocurre con la línea P₅, la cual tiene los menores valores de almidón, correspondiendo con el menor rendimiento de etanol.

También se planteó un modelo de efectos fijos para efectuar las comparaciones múltiples para híbridos y para líneas (Tabla 5.4.a y 5.4.b, respectivamente). La interacción genotipo- ambiente no fue estadísticamente significativa.

Tabla 5.4.a Comparación del contenido de almidón (porcentaje en base seca de maíz) para híbridos y líneas, mediante el test de comparación de media de Fisher

a)

Híbrido	Medias	
H ₄ X ₃	71,49	A
H ₃ X ₁	71,17	A
H ₅ X ₃	70,77	A
H ₂ X ₁	70,37	A
H ₃ X ₂	70,27	A
H ₄ X ₁	70,27	A
H ₅ X ₁	68,67	B
H ₅ X ₂	68,12	B
H ₄ X ₂	67,74	B
H ₅ X ₄	67,57	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$) con un error estándar de 0,46%

b)

Línea	Medias	
P ₃	72,21	A
P ₁	67,81	B
P ₂	65,31	C
P ₄	64,78	C
P ₅	63,21	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$) con un error estándar de 0,77%

La línea con mayor almidón fue P₃, seguida por P₁, similar a lo ocurrido en rendimiento de etanol. En este caso, los híbridos producto del cruzamiento de la línea P₃ con otras líneas fueron los que tuvieron un mejor comportamiento para almidón.

La línea con menor proporción de almidón fue la línea P₅, seguida por las líneas P₂ y P₄. Los tres híbridos producto de los cruzamientos de estas tres líneas de a pares fueron los de menor proporción de almidón. Como se puede observar anteriormente, ocurre lo mismo con el rendimiento de etanol.

En la figura 5.2 se puede observar la comparación para el contenido de almidón entre las líneas parentales y sus diez híbridos simples.

Figura 5.2. Comparación del contenido de almidón promedio entre los híbridos y las líneas a través de localidades.

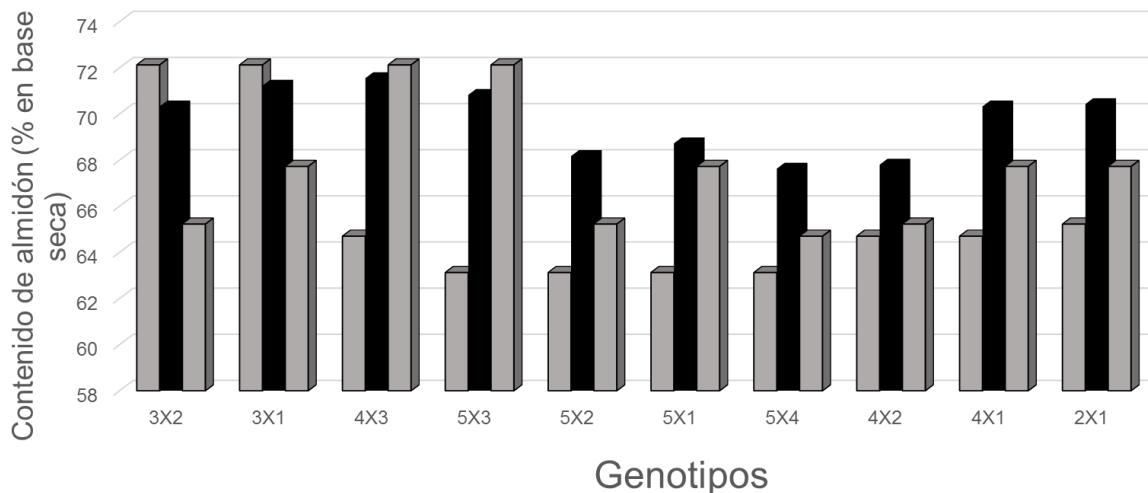


Figura 5.2. Contenido de almidón promedio (% en base seca) de los 10 híbridos simples (barras negras) comparados con el de sus líneas parentales (barras grises)

La estadística descriptiva para el resto de las variables de calidad de grano se presenta en la tabla 5.5.

Tabla 5.5.a. Estadística descriptiva para diversas variables de calidad del grano correspondiente a las 20 parcelas evaluadas de híbridos por localidad.

Localidad	Pergamino			Junín			Perg-Junín		
	Media	Desvío estándar	Mínimo	Máximo	Media	Desvío estándar	Mínimo	Máximo	
Proteína	8,52	0,92	7,0	11,4	9,73	0,82	8,5	11,4	
Aceite	5,02	0,43	4,2	5,8	5,04	0,47	4,2	5,8	
Palmitico	10,58	0,93	9,3	12,8	10,64	0,94	9,2	12,8	
Esteárico	2,4	0,31	1,9	3,2	2,18	0,38	1,4	2,8	
Oleico	30,74	4,41	25,2	40,1	31,97	5,38	22,9	40,1	
Linoleico	55,31	4,93	46	62,1	54,28	6,1	44,6	64,6	
Linolénico	0,98	0,15	0,8	1,3	0,96	0,17	0,7	1,3	
Saturados	12,97	1,16	11,6	15,6	12,82	1,13	11,1	15,6	

Tabla.5.5.a. Proteína (% en base seca), aceite (% en base seca), palmitico, esteárico, oleico, linoleico y linolénico (% en base al total de ácidos grasos).

Tabla 5.5.b. Estadística descriptiva para diversas variables de calidad del grano correspondiente a las 10 parcelas de líneas evaluadas por localidad.

Localidad	Pergamino	Junín	Perg-Junín	Pergamino	Junín	Perg-Junín	Pergamino	Junín	Perg-Junín	Pergamino	Junín	Perg-Junín
Variable	Media			Desvío estándar			Mínimo			Máximo		
Proteína	11,19	11,88	11,54	1,6	1,45	1,53	8,9	9,7	8,9	13,2	13,5	13,5
Aceite	4,46	4,27	4,37	0,59	0,43	0,51	3,4	3,7	3,4	5,4	5,1	5,4
Palmítico	10,75	10,72	10,74	1,46	1,44	1,41	8,8	8,8	8,8	12,9	12,7	12,9
Estearico	2,3	2,24	2,27	0,67	0,56	0,6	1,3	1,6	1,3	3,2	3,1	3,2
Oleico	29,85	31,27	30,56	6,84	6,91	6,73	19,0	22,3	19,0	39,2	38,5	39,2
Linoleico	54,06	54,77	55,42	8,35	8,25	8,11	43,6	44,8	43,6	67,0	64,5	67,0
Linolénico	1,05	1,05	1,05	0,37	0,31	0,33	0,6	0,7	0,6	1,8	1,5	1,8
Saturados	13,05	12,96	13,01	1,93	1,87	1,85	11	10,8	10,8	16,0	15,4	16,0

Tabla.5.5.b. Proteína (% en base seca), aceite (%en base seca), palmítico, estearico, oleico, linoleico y linolénico (% en base al total de ácidos grasos).

El híbrido H_{5X4}, el de menor rendimiento de etanol, presentó los máximos valores para proteína, palmíticos, estearicos y saturados. Por el contrario, el híbrido H_{3X1}, el de mayor contenido de etanol, presentó los valores mínimos para todas estas variables, a excepción del porcentaje de estearico, donde el mínimo fue obtenido por los híbridos H_{2X1} (Junín) y H_{5X2} (Pergamino). A su vez, el híbrido H_{3X1} obtuvo el menor valor para oleico.

El híbrido H_{3X2} presentó el valor máximo para oleico pero el mínimo para linoleico.

EL híbrido H_{5X2} fue del de mayor valor para contenido de aceite y el híbrido H_{2X1} el de menor valor para esta variable. Por último, para la variable linolénico el híbrido que obtuvo el mayor porcentaje fue el H_{3X1} y los de menor el H_{5X3} (Pergamino) y el H_{3X2} (Junín).

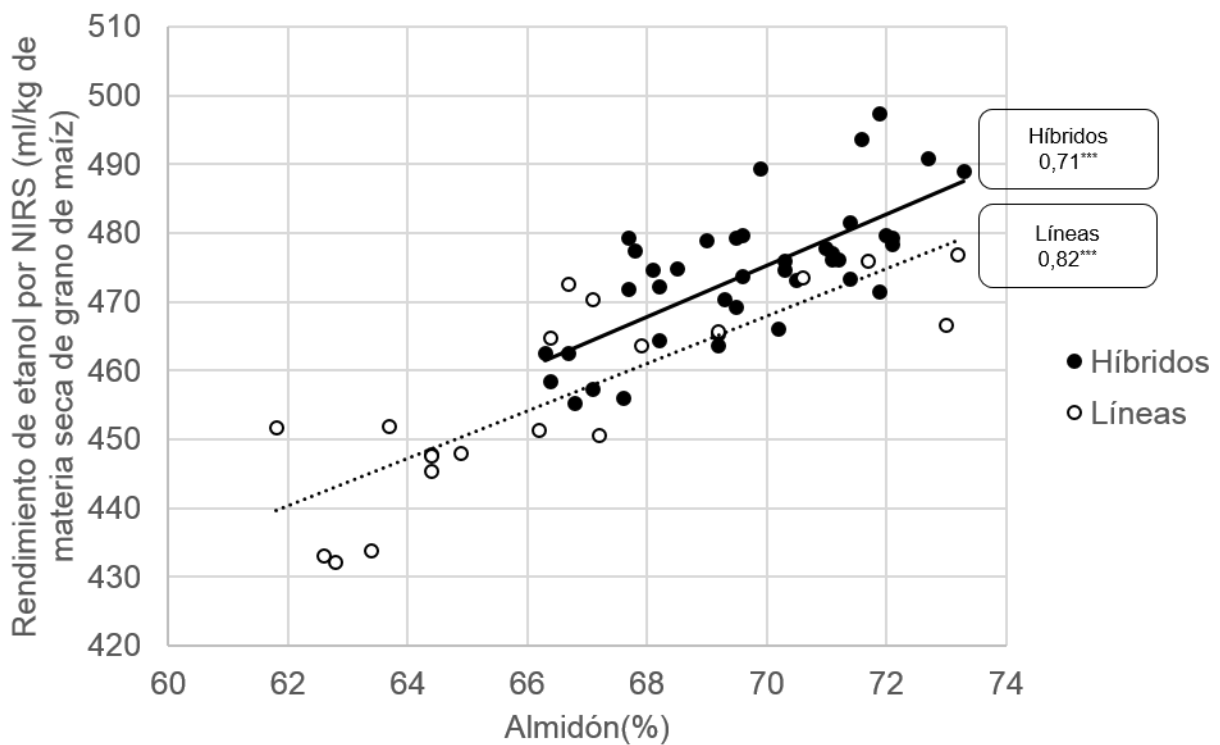
La línea P₃, la cual presentó el mayor rendimiento de etanol, fue en la que se observaron los menores valores de para los ácidos palmítico y saturado. La línea P₁, la cual obtuvo el segundo lugar para rendimiento de etanol (sin presentar diferencias significativas con la línea P₃, obtuvo los menores valores para proteína, contenido de aceite, oleico, pero los mayores para linoleico y linolénico.

La línea P₅ (con menor rendimiento de etanol) presentó los máximos valores para proteína, contenido de aceite, estearico, y el menor porcentaje de linolénico.

La línea P₄ presentó los mayores valores para palmítico, oleico y saturados, y el menor valor para linoleico. La línea P₂ obtuvo el mínimo valor para estearico.

El análisis de datos presentado anteriormente, da indicios de una posible correlación positiva entre rendimiento de bioetanol y el porcentaje de almidón. Por lo que, se realizó un test de correlación de Pearson para líneas e híbridos por separado. Se encontró correlación positiva y significativa entre el rendimiento de etanol y almidón, siendo mayor para las líneas (0.82) que para los híbridos (0.71)

Figura 5.3. Regresión del rendimiento promedio de etanol (ml/kg de materia seca de maíz) y el contenido de almidón (porcentaje en base seca de maíz) para híbridos y líneas a través de ambientes.



presenta correlación alta y positiva con esta variable. El resto de las variables presentan correlación baja o intermedia con la variable principal en estudio. Todas las correlaciones fueron mayores para líneas que para híbridos, a excepción de la variable linolénico, donde son prácticamente iguales.

Tabla 5.6. Correlación fenotípica de las diversas variables de calidad con el rendimiento de etanol para líneas e híbridos por separado.

Variable	Correlación con etanol		R ²	
	Híbridos	Líneas	Híbridos	Líneas
Proteína	-0,78 ^{***}	-0,81 ^{***}	0,61	0,66
Aceite	-0,51 ^{***}	-0,75 ^{***}	0,26	0,56
Palmítico	-0,44 ^{***}	-0,6 ^{***}	0,19	0,36
Estéarico	-0,02 ^{ns}	-0,39 [*]	0,0004	0,15
Oleíco	-0,69 ^{***}	-0,74 ^{***}	0,48	0,55
Linoléico	0,68 ^{***}	0,73 ^{***}	0,46	0,53
Linolénico	0,41 ^{***}	0,4 [*]	0,17	0,16
Saturados	-0,37 ^{**}	-0,58 ^{***}	0,14	0,34

Tabla 5.6. Correlación de Pearson entre características de calidad del grano de maíz y rendimiento de etanol.

***= p-value<0,01; **=p-value<0,05; *=p-value<0,1, ns= no significativo

El rendimiento de etanol presentó una correlación negativa y alta con el porcentaje de proteína. Se puede observar una pendiente negativa al graficar las dos variables en conjunto (Figura 5.4.). Los híbridos con mayores niveles de rendimiento de etanol fueron los de menor contenido proteico.

Figura 5.4. Regresión del rendimiento promedio de etanol (ml/kg de materia seca de maíz) y proteína (porcentaje en base seca de maíz) para híbridos y líneas.

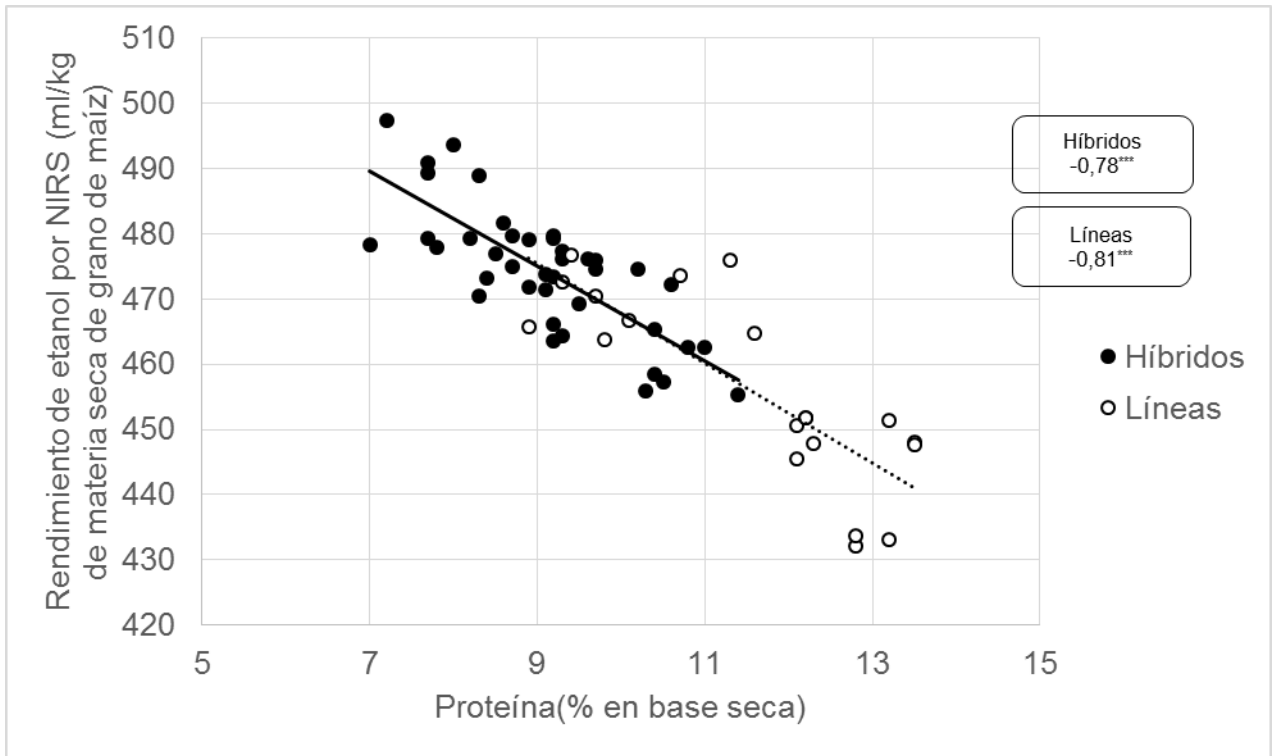


Figura 5.4. Regresiones estimadas para híbridos (recta completa) y para líneas (recta punteada) entre el rendimiento de etanol (ml/kg de grano de maíz en base seca) y el contenido de proteína (% en base seca). Además se presentan las correlaciones estimadas.

En la figura 5.5 se puede observar la comparación para el contenido promedio de proteína entre las líneas parentales y sus diez híbridos simples. Los híbridos presentaron menores valores para el contenido de proteína que las líneas. Por el contrario, los híbridos, como se mencionó anteriormente, presentaron mayores niveles para el rendimiento de etanol.

Figura 5.5. Comparación del contenido promedio de proteína entre los híbridos y las líneas a través de localidades.

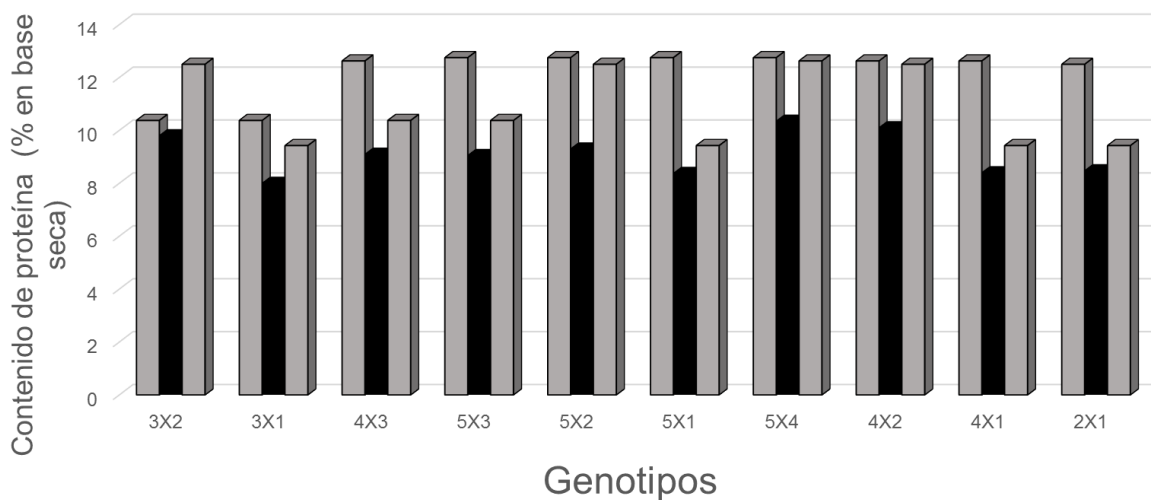


Figura 5.5. Contenido promedio de proteína (% en base seca) de los 10 híbridos simples (barras negras) comparados con el de sus líneas parentales (barras grises)

Las correlaciones parciales entre el rendimiento de etanol y el contenido de almidón, eliminando la influencia del contenido de proteína fueron menores para líneas e híbridos (0,62 y 0,36). Sin embargo el cambio fue mínimo cuando se eliminó la influencia del contenido de aceite (0,76 y 0,63), determinando la importancia del contenido de proteína en la correlación entre el rendimiento de etanol y el contenido de almidón.

5.2.1. Propiedades térmicas de almidón

Se realizó un análisis de varianza para las variables de propiedades térmicas del almidón de gelatinización y retrogradación para las líneas e híbridos por separado. La interacción genotipo por ambiente no resultó significativa para ninguna de las variables. Sin embargo, en el análisis para los híbridos resultaron significativas para genotipos ($p < 0,05$) las siguientes variables:

- Temperatura de inicio de la transformación térmica (ToG),
- altura máxima del pico de Entalpía (TpG),
- Entalpía de la transformación, expresada en cal/g (ΔH_G),
- Índice de Altura de Pico (PHI),
- temperatura de inicio de la transformación térmica (ToR),,
- altura máxima del pico de Entalpía (TpR),,
- Rango (RR),
- % Retrogradación (% R)

Para las líneas las propiedades térmicas significativas para genotipos fueron:

- Temperatura de inicio de la transformación térmica (ToG),
- altura máxima del pico de Entalpía (TpG),
- Índice de Altura de Pico (PHI)

Las variables asociadas a retrogradación no presentaron diferencias significativas entre los diversos genotipos evaluados.

Ninguna de las variables de propiedades térmicas presentó correlación significativa ($p < 0,05$) con rendimiento de etanol, y tampoco con el porcentaje de almidón ($p < 0,05$).

5.3 Estimación de parámetros genéticos

5.3.1 Aptitud combinatoria general y específica

Los efectos de aptitud combinatoria general fueron significativos para todas las variables para cada localidad y para el análisis multiambiental (Figura 5.6). Los efectos de aptitud combinatoria específica solo fueron significativos ($p < 0,01$) para el rendimiento de etanol cuando el análisis fue a través de localidades.

Figura 5.6. Efectos de aptitud combinatoria general para rendimiento de etanol, almidón, proteína y contenido de aceite, expresados como desvíos de la media correspondiente a cada carácter

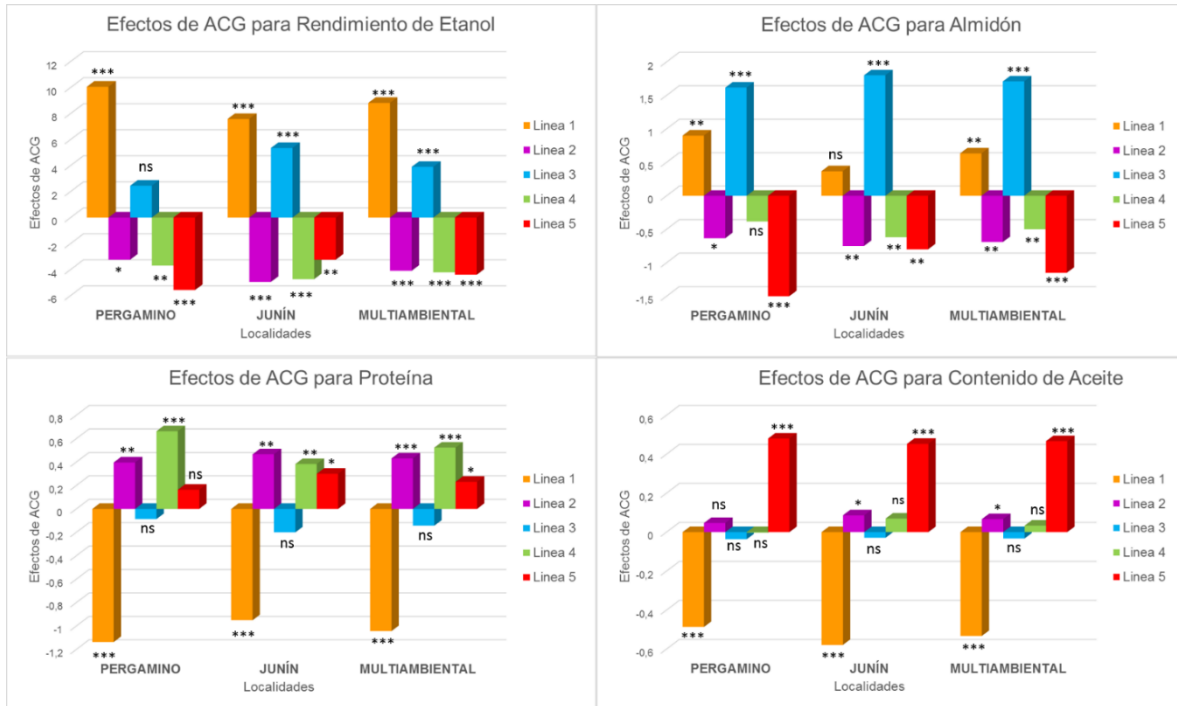


Figura 5.6. En el eje de las y, se observan las variables. a) rendimiento de etanol (medias de 456,18; 456,14 y 456,16 para Pergamino (P), Junín (J) y Multiambiental (MA), respectivamente; b) contenido de almidón (medias= 66,73 (P), 66,43(J) y 66,58(MA)); c) Proteína (medias= 11,19 (P), 11,88(J) y 11,54 (MA)) y d) contenido de aceite (medias= 4,46 (P), 4,27 (J) y 4,37 (MA)). En el eje de las x, se encuentran las localidades en estudio. ***= p-value<0,01; **=p-value<0,05; *=p-value<0,1, ns= no significativo

Se identificó a la línea P₁ como el parental con mejor comportamiento en todas las cruza para el rendimiento de etanol, presentando efectos de ACG positivos para el contenido de almidón. Por el contrario, presentó efectos de ACG negativos para el contenido de proteína y el contenido de aceite.

La línea P₃ presentó los mayores efectos de ACG para el contenido de almidón, además de observarse efectos de ACG positivos para rendimiento de etanol en todas las cruza. Para esta línea no se observaron efectos estadísticamente significativos de ACG para el contenido de proteína y de aceite.

Las líneas P₂, P₄ y P₅ presentaron efectos negativos de ACG para el rendimiento de etanol, observándose desvíos de la media similares para las tres líneas.

La línea P₅ presentó los menores efectos de ACG para el contenido de almidón y los mayores efectos de ACG para contenido de aceite.

Las líneas P₂ y P₄ mostraron efectos de ACG negativos significativos para contenido de almidón y positivos para proteína.

A partir de los cuadrados medios (CM) de los análisis de varianza del diseño dialélico a través de localidades se calcularon los componentes de varianza, el grado de determinación genética y la contribución relativa de los efectos aditivos y no aditivos para el rendimiento de etanol, almidón, proteína, contenido de aceite (Tabla 5.8.a) y perfil de ácidos grasos (tabla 5.8.b)

Tabla 5.8.a. Parámetros genéticos estimados para etanol, almidón, proteína y contenido de aceite.

Variable	Etanol	Almidón	Proteína	Aceite
CM _{ACG} /CM _{ACE}	1,72	2,70	3,91	3,51
σ^2_{ACG}	70,12	2,55	0,76	0,25
σ^2_A	140,24	5,10	1,52	0,50
σ^2_D	40,68	0,94	0,19	0,07
σ^2_G	189,92	6,04	1,71	0,57
σ^2_F	200,9	6,87	2,00	0,59
H	0,90	0,88	0,86	0,97

CM_{ACG}/CM_{ACE}= Relación de los cuadrados medios; σ^2_{ACG} =Varianza de Aptitud combinatoria general; σ^2_A = Varianza Aditiva; σ^2_D = varianza de dominancia; σ^2_G = Varianza genotípica; σ^2_F =Varianza fenotípica; H^2 = grado de determinación genética.

Tabla 5.8.b. Parámetros genéticos estimados para el perfil de ácidos grasos...

Variable	Palmítico	Estéarico	Oleíco	Linoléico	Linolénico	Saturados
CM_{ACG}/CM_{ACE}	25,6	30,54		77,48	34,5	13,96
σ^2_{ACG}	1,06	0,13	28,21	40,09	0,0345	1,72
σ^2_A	2,12	0,26	56,42	80,18	0,069	3,44
σ^2_D	0,04	0,004	0	0,52	0,001	0,12
σ^2_G	2,16	0,264	56,42	80,7	0,07	3,56
σ^2_F	2,39	0,31	63,38	86,4	0,073	3,77
H	0,90	0,85	0,89	0,93	0,96	0,94

CM_{ACG}/CM_{ACE} = Relación de los cuadrados medios; σ^2_{ACG} =Varianza de Aptitud combinatoria general; σ^2_A = Varianza Aditiva; σ^2_D = varianza de dominancia; σ^2_G = Varianza genotípica; σ^2_F =Varianza fenotípica; H^2 = grado de determinación genética.

El grado de determinación genética fue alto para todas las variables, lo que nos indica la importancia del componente genotípico para las mismas.

El cociente entre la ACG y ACE nos da una idea de la importancia relativa de la acción génica que controla el carácter. Se pudieron observar valores mayores a 1 para todas las variables en estudio, Indicando que la ACG tiene mayor relevancia que la ACE para el carácter, por lo que el tipo de acción génica que lo controla sería aditiva.

5.3.2. Estimación de la heredabilidad mediante componentes de varianza

En la Tabla 5 se presentan las estimaciones de la heredabilidad para las diferentes variables, considerando un modelo lineal mixto. Los resultados de la prueba de razón de verosimilitud indicaron que el efecto genotípico (Líneas) fue estadísticamente significativo ($p < 0,0001$), pero no la interacción genotipo x ambiente, ni las localidades.

El componente genotípico contribuyó con la mayor parte de la variabilidad fenotípica. Podemos observar que las heredabilidades son altas para todas las variables, superando el 0,75 en todos los casos.

Tabla 5.9. Componentes de varianza (REML)

Variable	Etanol	Almidón	Proteína	Aceite	Palmitico	Esteárico	Oleico	Linoleico	Linolénico	Saturados
Variancias										
Genotipo	58,82	1,96	0,58	0,18	0,77	0,09	18,83	26,94	0,02	1,25
Genotipo*Localidad	5,76e-8	7,29E-08	2,25E-10	4,00E-03	2,89E-10	4,00E-04	3,20E-04	8,41E-08	9,00E-04	2,89E-08
Error	16,72	0,82	0,22	0,019	0,27	0,036	6,60	5,47	3,60E-03	0,3

Variable (Pergamino)	Etanol	Almidón	Proteína	Aceite	Palmitico	Esteárico	Oleico	Linoleico	Linolénico	Saturados
Variancias										
Genotipo	58,68	1,96	0,61	0,17	0,81	0,07	15,13	20,79	0,02	1,32
Error	26,83	0,90	0,29	0,02	0,10	0,03	5,33	4,79	3,60E-03	0,09

Variable (Junín)	Etanol	Almidón	Proteína	Aceite	Palmitico	Esteárico	Oleico	Linoleico	Linolénico	Saturados
Variancias										
Genotipo	52,42	1,96	0,43	0,21	0,58	0,11	21,81	32,49	0,03	1,02
Error	13,1	0,77	0,27	0,02	0,35	0,04	8,58	6,6	3,60E-03	0,32

Tabla 5.10. Estimación de la heredabilidad basada en análisis de varianza (REML)

Variable	Localidad	h ²	Variable	Localidad	h ²
Etanol	Pergamino	0,88	Estéarico	Pergamino	0,81
	Junin	0,81		Junin	0,85
	Perg-Junín	0,93		Perg-Junín	0,91
Almidón	Pergamino	0,84	Oleico	Pergamino	0,85
	Junin	0,81		Junin	0,84
	Perg-Junín	0,9		Perg-Junín	0,92
Proteína	Pergamino	0,76	Linoleico	Pergamino	0,9
	Junin	0,81		Junin	0,91
	Perg-Junín	0,91		Perg-Junín	0,95
Contenido de aceite	Pergamino	0,94	Linolénico	Pergamino	0,92
	Junin	0,96		Junin	0,94
	Perg-Junín	0,96		Perg-Junín	0,94
Palmitico	Pergamino	0,94	Saturados	Pergamino	0,97
	Junin	0,77		Junin	0,86
	Perg-Junín	0,92		Perg-Junín	0,94

Las heredabilidades estimadas por el diseño dialélico y basadas en componentes de varianza fueron similares, llegando a ser iguales en algunos casos o presentando pequeñas diferencias.

6. DISCUSIÓN

Los niveles de etanol oscilaron entre los 455,3-497,6 ml por kg de masa seca de grano de maíz. En Estados Unidos, el país con mayor producción de etanol, el rendimiento de etanol por grano de maíz es de 424,74 ml por kg de masa seca de grano de maíz (*Renewable Fuels Association, 2017(a)*). Esto nos indica que el germoplasma local tendría potencial para lograr una producción de bioetanol mayor que la de Estados Unidos.

El porcentaje de almidón osciló entre 66,3 y 73,3 %. Congruentes con trabajos previos donde informaron valores del contenido de almidón del 72-73% (Orhun *et al.* 2013; Sofi *et al.*, 2009; FAO, 1993) y 60,38 a 66,31% (Khan *et al.*, 2015)

Los niveles de proteína encontrados estuvieron entre 7 y 11,4%, siendo similares a las proporciones halladas en bibliografía que oscilan entre 5,7 a 15,8% (Orhun *et al.*, 2013); Sofi *et al.*, 2009; FAO., 1993; Singh *et al.*, 2004; Iken *et al.*, 2002; Shukla *et al.*, 2001; Hogan *et al.*, 1955; Mitchell *et al.*, 1952; Khan, 2015)

El contenido de aceite fue entre 4,2 y 5,8%. Estos resultados coinciden con los obtenidos por Khan donde los valores obtenidos fueron entre 4,16 y 5,76% (Khan *et al.*, 2015). Otros investigadores lo han encontrado valores entre 3 a 18% (Orhun *et al.*, 2013; Chen, 2010; Heiniger *et al.* 2001; FAO, 1993; Alexander, 1971).

Los valores para ácido palmítico oscilaron entre 9,2 % y 12,8 %, coincidiendo con los datos informados por la FAO (2003) donde indican que este ácido se encuentran en aproximadamente en un nivel medio del 11%. Jellum (1970) reporto valores en un rango de 6-22%.

El ácido esteárico varió entre 1,4 y 3.2%, coincidiendo también con los valores informados por la FAO (2003), quien informo que los valores medios tienen un nivel medio del 2%. Jellum (1970) los encontró en 0,6%-15%, valores mucho más altos que los hallados en este trabajo.

El ácido oleico se encontró en una proporción entre el 22,9 y 40,1%, lo cual coincide con lo reportado por Jellum (1970) quien notificó valores entre 14-64%.

El ácido linoleico fue hallado en proporciones entre 44,6 y 64,6%, siendo el ácido encontrado en mayor proporción. Esta información coincide con lo reportado por Jellum (1970) quien halló valores entre 19-71%, White y Weber (2003) que encontraron valores cercanos al 60%. Eyherabide *et al.* (2005) informaron las siguientes proporciones medias de la composición de ácidos grasos para líneas locales: ácido palmítico (9,6-12,3%), ácido esteárico (0,9-3,1%), ácido oleico (27,8-54,8%) y ácido linoleico (33,1-70,0%), datos concordantes con los hallados en este estudio.

El ácido linolénico fue hallado en proporciones entre 0,7-1,3%, coincidiendo con lo reportado por ILSI Argentina (2014), quien además informa la proporción del resto de los ácidos grasos: ácido palmítico (7,94-14,05%), ácido esteárico (1,33-2,66%), ácido oleico (19,4-40,2%) y ácido linoleico (43,1-64,4%). Estos coinciden con los rangos reportados en este trabajo

Se observó una correlación positiva y alta entre rendimiento de etanol y almidón. Estos resultados discrepan con los hallados por otros investigadores, quienes encontraron una correlación pobre entre el contenido de almidón en el grano y el rendimiento de etanol (Zhan *et al.*, 2003; Singh V, 2012; Singh V and Graeber JV, 2005; Dien *et al.*, 2012; Gumienna *et al.*, 2016),

El porcentaje de proteína en grano estuvo correlacionado negativamente con el rendimiento de etanol tanto en híbridos como en líneas, una de las causas de esta correlación negativa podría atribuirse a que los gránulos de almidón se incrustan en la matriz proteica y en estructuras de la pared celular (en maíz y sorgo), lo que reduce el acceso enzimático, dificultando la hidrólisis del almidón, y consecuentemente la fermentación de los azúcares que lo conforman. (Rooney y Pflugfelder 1986). Por lo tanto, los mayores rendimientos de etanol en los mejores híbridos y líneas podrían deberse tanto a una mayor proporción de almidón como a una mayor disponibilidad del mismo debido a la menor cantidad de proteínas.

Las propiedades térmicas del almidón son otro factor importante. Si bien en este trabajo no se halló ningún tipo de correlación estadísticamente significativa de las propiedades térmicas del almidón con el rendimiento de etanol mediante el análisis de correlaciones de *Pearson*, se esperaba encontrar algún tipo de asociación, debido a que un proceso convencional para la producción de etanol, es gelatinizar el almidón del grano por molienda seca, e hidrolizarlo a dextrina usando α -amilasas (licuefacción). A partir de la misma se produce glucosa. La energía para este proceso aumenta el costo de producción y disminuye el rendimiento energético del bioetanol. Además, al formarse complejos amilosa-lípido, el almidón retrogradado reduce la cantidad de almidón fermentable y, por lo tanto, su rendimiento (Kunz, M. 2008, Srichuwong y Jane 2011).

Con respecto a la correlación fenotípica entre el rendimiento de etanol y el porcentaje de cada ácido graso en particular, hemos encontrado correlación negativa para el ácido palmítico, siendo mucho mayor en líneas que en híbridos. No ocurre con el ácido linoleico, encontrándose una asociación positiva tanto para líneas como para híbridos. Se conoce que los ácidos grasos, el ácido palmítico y el ácido linoleico, como se mencionó anteriormente, forman complejos con amilosa en la superficie de los gránulos de almidón (Baldwin *et al.*, 1997, Crowe *et al.*, 2000, Tufvesson *et al.* 2001). Este hecho inhibe la hinchazón del gránulo de almidón durante la cocción y reduce la interacción con las enzimas (Svihus *et al.*, 2005).

Las heredabilidades fueron altas para todos los caracteres evaluados, por lo que se podría seleccionar directa o indirectamente para rendimiento de etanol. La selección directa es una buena opción, ya que la heredabilidad estimada para este carácter es alta, además de ser una variable de fácil medición mediante NIRs. Para el contenido de almidón la heredabilidad también fue alta, pero su medición actualmente es más compleja. Otra opción es la selección indirecta para bajos niveles de proteína, ya que la heredabilidad y la correlación genética estimadas son altas y el proceso es sencillo si se tiene la curva de calibración NIRs.

No se encontró interacción genotipo por ambiente, por lo que no hay un comportamiento diferencial de los genotipos en las dos localidades estudiadas. Esto puede deberse a una similitud de las condiciones ambientales dadas. De todos modos quizás deberían ampliarse el estudio a un mayor número de localidades, para evaluar si se halla este componente.

El componente de aptitud combinatoria general fue más alto que el de aptitud combinatoria específica para todas las variables estudiadas, lo que indica una mayor contribución de la acción génica aditiva heredable, que de la no aditiva; ello implica que la mejora de estos rasgos se puede lograr mediante selección.

7. CONCLUSIÓN

Los híbridos productos de los cruzamientos de la línea LP2542 con otras líneas fueron los de mayor rendimiento de etanol. Por el contrario, sus híbridos presentaron valores altos para contenido de almidón ácido linolénico y los menores valores de proteína, contenido de aceite, ácido palmítico y ácido oleico. Esta línea, además de presentar uno de los rendimientos de etanol más elevados, fue la línea que presentó el mayor efecto de aptitud combinatoria general para esa variable, lo que indica un buen comportamiento como padre para este carácter. Sin embargo, obtuvo valores negativos para proteína, contenido de aceite, ácido palmítico y ácido oleico, lo cual se refleja en los valores obtenidos por sus híbridos.

Para incrementar el rendimiento de etanol son fundamentales niveles altos de almidón, debido a que es la materia prima para el proceso de obtención de etanol. Sin embargo, al incrementar el rendimiento de etanol, se observa una disminución del resto de los caracteres. Por lo tanto, para aprovechar mejor la materia prima en el mercado, sería recomendable un incremento en el rendimiento de etanol, pero manteniendo niveles aceptables de las otras variables, ya que tienen un gran valor en la industria alimentaria como burlanda.

Las líneas LP2542 y LP29 fueron las que presentaron mayores rendimientos de etanol, además de presentar los mayores efectos de aptitud combinatoria general para este carácter, por lo que podrían sugerirse para un plan de mejora con el objetivo de obtener mayores niveles de etanol, aprovechando la acción génica aditiva que representan sus efectos positivos y altos de aptitud combinatoria general.

Los diversos caracteres asociados al rendimiento de etanol presentaron diferencias en la importancia relativa de los tipos de acción génica que los controlan, debido a que se determinó una mayor contribución de la acción génica del tipo aditiva.

8. BIBLIOGRAFÍA

Agronomix Software, Inc., and AGROBASE, (1998) Addendum. 2000. AGROBASE™, 71 Waterloo St. Winnipeg, Manitoba, R3NNOS4, Canadá.

Alegre, M., Copia P. A., Di Martino A. M. y Raso H., (2014). Uso de metodologías de laboratorio para la evaluación de rendimiento potencial de etanol en maíz. http://www.congresodemaiz.com.ar/usos/USO-DE-METODOLOGIAS-DE-LABORATORIO-PARA LA EVALUACION_DE.pdf (disponible 19-02-15).

Alexander, D.E. 1971. "Progress in breeding maize for oil content." *Eucarpia*: 74-78.

Allard, R. W., & Montoya, L. (1967). *Principios de la mejora genética de las plantas* (No. SB123. A4418 1967.). Omega.

Alvarez, A. (2006) Aplicaciones del maíz en la tecnología alimentaria y otras industrias. Maíz y Nutrición. Recopilación de ILSI Argentina, 9-13.

AOCS., (1998). Association of official analytical chemists. Official methods of analysis. 16 th ed. Washington DC, Estados Unidos.

Atwell, W. A., Hood, L. F., Lineback, D. R., Varriano-Marston, E., & Zobel, H. F. (1988). The terminology and methodology associated with basic starch phenomena. *Cereal foods world (USA)*.

Baldwin, P.M., Melia, C.D., Davies, M.C. (1997). The surface chemistry of starch granules studied by time-of-flight secondary ion mass spectrometry. *J. Cereal. Sci.*, 26, 329-346.

Bajpai, P., (2013). *Advances in bioethanol*. New Dehli, India. SpringerBriefs in Applied Science and Technology Springer Science and business media.

Biliaderis, C. G., Maurice, T. J., & Vose, J. R. (1980). Starch gelatinization phenomena studied by differential scanning calorimetry. *Journal of food science*, 45(6), 1669-1674.

Bothast, R. J. and Schlicher, M. A., (2014). "Biotechnological processes for conversion of corn into ethanol. *Applied Microbiology and Biotechnology* 67(1): 19–25.

Case, S. E., Capitani, T., Whaley, J. K., Shi, Y. C., Trzasko, P., Jeffcoat, R., & Goldfarb, H. B. (1998). Physical properties and gelation behavior of a low-amylopectin maize starch and other high-amylose maize starches. *Journal of Cereal Science*, 27(3), 301-314.

Ceballos, H. (1995). *Principios de genética cuantitativa*. Palmira, Universidad Nacional.

Chen, A. 2010. "Maize oil consumption increase with the annual growth rate of over 30% in China." <http://www.articlesbase.com/business-articles/maize-oil-consumption-increase-with-the-annual-growth-rate-of-over-30-in-china-1763997.html>

Cockerham, C. C., (1963). Estimation of genetic variances. *Statistical genetics and plant breeding* 982: 53-94.

Crowe, T. C., Seligman, S. A., & Copeland, L. (2000). Inhibition of enzymic digestion of amylose by free fatty acids in vitro contributes to resistant starch formation. *The Journal of nutrition*, 130(8), 2006-2008.

Decreto 543/2016 Porcentaje obligatorio de Bioetanol. Abastecimiento. Disponible en: <http://infoleg.mecon.gov.ar/infolegInternet/anexos/255000-259999/259942/norma.htm> Consultado: 11/10/2017

Di Renzo, J. A., Casanoves F., Balzarini M. G., Gonzalez L., Tablada M. y Robledo C. W., InfoStat versión 2010. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.

Dien, B. S., Wicklow, D. T., Singh, V., Moreau, R. A., Winkler-Moser, J. K., & Cotta, M. A. (2012). Influence of *Stenocarpella maydis* infected corn on the composition of corn kernel and its conversion into ethanol. *Cereal chemistry*, 89(1), 15-23.

Dombrink-Kurtzman, M. A., and J. A. Bietz. 1993. Zein composition in hard and soft endosperm of maize. *Cereal Chem.* 70(1): 105-108.

Dombrink-Kurtzman, M. A., and C. A. Knutson. 1997. A study of maize endosperm hardness in relation to amylose content and susceptibility to damage. *Cereal Chem.* 74(6): 776-780.

Enciclopedia de ciencias y tecnologías en Argentina. (2018). *Asociación Argentina de Biocombustibles e Hidrógeno - ECyT-ar.* (en línea). Disponible en: https://cytar.com.ar/cytar/index.php/Asociaci%C3%B3n_Argentina_de_Biocombustibles_e_Hidr%C3%B3geno Consultado: 5/03/2018.

Evans, A., & Thompson, D. B. (2004). Resistance to α -amylase digestion in four native high-amylose maize starches. *Cereal Chemistry*, 81(1), 31-37.

Eyherabide, G. H., Borrás, F. S., Presello, D. A., & Robutti, J. L. (2005a). Caracterización de líneas argentinas de maíz por propiedades térmicas del

almidón de interés industrial. In Congreso Nacional de Maíz. 8. 2005 11 16-18, 16 al 18 Noviembre 2005. Rosario, Santa Fe. AR.

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

Eyhérabide, G., Borrás F., Robutti J. and White P., (2006). Gelatinization and retrogradation traits of starches from Argentinian corn inbred lines: Genotypic and environmental variability. *Cereal Chemistry* 84(1):92-96.

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

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

Falconer, D. S. y Mackay, T. F. C., (1996). Introducción a la genética cuantitativa. Cuarta edición, reimpresión 2006. Zaragoza, España. Editorial ACRIBIA.

FAO (The Food and Agriculture Organization of the United Nations) (1993). Maize in human nutrition.

FAO (The Food and Agriculture Organization of the United Nations) (2003). Selected indicators of food and agriculture development in Asia-Pacific region.

Geissman, T. A., (1973). *Principios de química orgánica*. Reverté.

Griffing, B., (1956). Concept of general and specific combining ability in relation to diallel crossing systems. *Australian Journal of Biological Sciences* 9(4): 463-93.

Gumienna, M., Szwengiel, A., Lasik, M., Szambelan, K., Majchrzycki, D., Adamczyk, J., ... & Czarnecki, Z. (2016). Effect of corn grain variety on the bioethanol production efficiency. *Fuel*, 164, 386-392.

Heiniger, W.R. and Dunphy, E.J. 2001. "High Oil Corn Production Q and A." Disponible en: http://www.ces.ncsu.edu/plymouth/cropsci/docs/high_oil_corn97.html.

Hernández, S., Segovia-Hernández, J. G., Santamaría-Rivera, M. P., Hernández-Escoto, H., Gutiérrez-Antonio, C., Briones-Ramírez A. and Maya-Yescas, R., (2009). Analysis of energy consumption of distillation options to obtain high-purity bioethanol. In Erbaum, J. B., *Bioethanol: production, benefits and economics*. New York, United States. Nova Sciences Publishers. 119-134.

Hill, W. G., Goddard, M. E. and Visscher, P. M., (2008) Data and theory point to mainly additive genetic variance for complex traits. *PLoS Genet* 4(2): e1000008.

Himmel, M. E., Ding, S. Y., Johnson, D. K., Adney, W. S., Nimlos, M. R., Brady, J. W. and Foust, T. D. (2007). Biomass recalcitrance: Engineering plants and enzymes for biofuels production. *Science*, 315(5813): 804-807.

Hogan, A.G., Gillespie, G.T., Koatubk, O., O'Dell, B.L., and Flynn, L.M. 1955. "The percentage of protein in corn and its nutritional properties." *J of nutri* 1532: 225-239.

Iken, J.E., Amusa, N.A., and Obatolu, V.O. 2002. "Nutrient composition and weight evaluation of some newly developed maize varieties in Nigeria." *J of Food Tech in Africa*. 7: 27-29.

Bolsa de Comercio de Rosario. (2018). Capacidad de producción de etanol de Argentina no llega al 2% de la de EE.UU. (en línea) Disponible en: https://www.bcr.com.ar/Pages/Publicaciones/informativosemanal_noticias.aspx?plDNoticia=664 Consultado: 11/02/2018.

Instituto Internacional de Ciencias Vivas (ILSI) (2014), base de datos de la composición del grano de cultivo de maíz, versión 4.2

Instituto Nacional de Estadística y Censos (INDEC), (2017). Biocombustibles. Informes Técnicos vol 1 nº 33: Energía Vol 1 nº4. Disponible en: https://www.indec.gob.ar/uploads/informesdeprensa/biocombustibles_02_17.pdf

INTA BALCARCE, (2006). Calidad del grano del maíz. Departamento de Producción Animal y Vegetal. Univ. Nacional de la Plata, Argentina.

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

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

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

Kambal, A. E. and Webster O. J., (1965). Estimates of general and specific combining ability in grain sorghum. *Crop Science*. 5(6): 521-523.

Krieger, K. M., Duvick, S. A., Pollak, L. M., & White, P. J. (1997). Thermal properties of corn starch extracted with different blending methods: Microblender and homogenizer. *Cereal chemistry*, 74(5), 553-555.

Kunz, M. (2008). Bioethanol: experiences from running plants, optimization and prospects. *Biocatalysis and Biotransformation*, 26(1-2), 128-132.

Klucinec, J. D., & Thompson, D. B. (1999). Amylose and amylopectin interact in retrogradation of dispersed high-amylose starches. *Cereal chemistry*, 76(2), 282-291.

Landry, L., S. Delhaye, and C. Damerval. 2004. Protein distribution pattern in floury and vitreous endosperm of maize grain. *Cereal Chem.* 81(2): 153-158.

Lee, E.A. 2009. Maize for oil. In: Vollmann J. y Rajcan I. Oil Crops. Springer. New York. pp. 493-505.

McMurry, J (2012). *Química orgánica*. 8 edición. Cengage Learning Editores.

Mitchell, H.H., Hamilton, T.S., and Beadles, J.R. 1952. "The relationship between the protein content of corn and the nutritional value of the protein." *The J of Nutri.* 461-476.

Moorthy, S. N. (2002). Physicochemical and functional properties of tropical tuber starches: a review. *Starch-Stärke*, 54(12), 559-592.

Monteiro Salles-Filho, S. L., Barbosa Cortez, L. A., Ferreira Jardim da Silveira, J. M., Trindade, S. C. and Derengowski, Fonseca, M. G., (2016). Global bioethanol: Evolution, risks, and uncertainties. London, United Kingdom. Academic Press.

Naidu, K., Singh, V., Johnston, D. B., Rausch, K. D., & Tumbleson, M. E. (2007). Effects of ground corn particle size on ethanol yield and thin stillage soluble solids. *Cereal chemistry*, 84(1), 6-9.

O'Brien R.D. 2009. *Fats and Oils: Formulating and Processing for Applications*. CRC Press, Boca Raton, 744 p.

Ondáš, V., Horváthová, V., & Šturdík, E., (2011). Lipids-free waxy corn starch as a substrate for distillery yeasts *Saccharomyces cerevisiae*. *Biologia*, 66 (3):395-400.

Orhun, G.E. 2013. "Maize for life." *Int J of Food Sci and Nutri Eng*. 3 (2): 13-16.

Ostlund Jr, R. E., Racette, S. B., Okeke, A., & Stenson, W. F. (2002). Phytosterols that are naturally present in commercial corn oil significantly reduce cholesterol absorption in humans. *The American journal of clinical nutrition*, 75(6), 1000-1004.

Percibaldi, N. M, Borrás F. S. y Robutti J. L., (1997). Método rápido de extracción y metilación para determinación de ácidos grasos en mejoramiento genético del aceite de maíz. *Actas VI Congreso Nacional de Maíz*. Capítulo IV: 5-8.

Popp, J., Harangi-Rákos, M., Gabnai, Z., Balogh, P., Antal, G., & Bai, A. (2016). Biofuels and their co-products as livestock feed: global economic and environmental implications. *Molecules*, 21(3), 285.

R Core Team (2015). *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Disponible en: URL <https://www.R-project.org/>.

Ramchandran, D., Johnston, D. B., Tumbleson, M. E., Rausch, K. D., & Singh, V. (2015). Seasonal variability in ethanol concentrations from a dry grind fermentation operation associated with incoming corn variability. *Industrial Crops and Products*, 67, 155-160.

Renewable Fuels Association. (2016). About: (en línea). Disponible en: <http://www.ethanolrfa.org/about/> . Consultado: 12/10/2016.

Renewable Fuels Association. (2017a). How Ethanol is Made? (en línea). Disponible en: <http://www.ethanolrfa.org/how-ethanol-is-made/> Consultado: 10/11/2017.

Renewable Fuels Association. (2017b). Industry Statistics (en línea). Disponible en: <http://ethanolrfa.org/resources/industry/statistics/>. Consultado: 12/11/2017.

Renewable Fuels Association. (2018). *Food vs. Fuel Myth – Renewable Fuels Association*. [online] Available at: <http://www.ethanolrfa.org/consumers/food-vs-fuel/> [Accessed 16 Jan. 2018].

Revista Chacra (2017). *El etanol en Argentina tiene mucho para crecer - Revista Chacra*. (en línea). Disponible en: <http://www.revistachacra.com.ar/nota/14750/>. Consultado: 01/11/2017

Richardson, P. H., Jeffcoat, R., & Shi, Y. C. (2000). High-amylose starches: From biosynthesis to their use as food ingredients. *MRS Bulletin*, 25(12), 20-24.

Robutti, J. L., R. C. Hoseney, and C. E. Wassom. 1974. Modified opaque-2 corn endosperms. II. Structure viewed with a scanning electron microscope. *Cereal Chem.* 51(2): 173-180.

Robutti, J. L., F. S. Borrás, and G. H. Eyherabide. 1997. Zein compositions of mechanically separated coarse and fine portions of maize kernels. *Cereal Chem.* 74(1): 75-78.

Robutti, J. L., Borrás, F. S., Percibaldi, N. M and Knutson, C. A., (2000). Evaluation of quality factors in argentine maize races. *Cereal Chemistry* 77(1):24-26.

Rodríguez, F., Alvarado, G., Pacheco, A., Crossa, J. y Burgueño, J. 2015-06-08, "AGD-R (Analysis of Genetic Designs with R for Windows) Version 2.0", <http://hdl.handle.net/11529/10202> International Maize and Wheat Improvement Center

Rooney, L.W., McDonough, C.M., Waniska, R.D. (2004). The Corn kernel. In: Smith C.W., Betrán J., Runge E.C.A. Corn: Origin, history, technology and production. Wiley Series in Crop Science. New Jersey

Rooney, L. W., & Pflugfelder, R. L. (1986). Factors Affecting Starch Digestibility with Special Emphasis on Sorghum and Corn 1. *Journal of Animal Science*, 63(5), 1607-1623.

Sandoval A. A., Rodríguez Sandoval E. y Fernández Quintero A., (2004). Aplicación del análisis por calorimetría diferencial de barrido (DSC) para la caracterización de las modificaciones del almidón. *Dyna*, 72(146): 45-53

Shi, Y. C., Capitani, T., Trzasko, P., & Jeffcoat, R. (1998). Molecular structure of a low-amylopectin starch and other high-amylose maize starches. *Journal of Cereal Science*, 27(3), 289-299.

Shukla, R. and Cheryan, M. 2001. "Zein: the industrial protein from corn." *Ind Crops and Pro.* 13: 171–192.

Sievert, D., and Pomeranz, Y. 1989. Enzyme-resistant starch. I. Characterisation and evaluation by enzymatic, thermoanalytical, and microscopic methods. *Cereal Chem.* 66:342-347.

Sievert, D., and Pomeranz, Y. 1990. Enzyme-resistant starch. II. Differential scanning calorimetry studies on heat treated starches and enzyme resistant starch residues. *Cereal Chem.* 67:217-221.

Singh, M., Paulsen, M.R., Tian, L., and Yao, H. (2004). Site-Specific study of corn Protein, oil, and extractable starch variability using nit spectroscopy. *Food and Process Eng Inst ASAE*. 21 (2): 239-251.

Singh, V., & Graeber, J. V. (2005). Effect of corn hybrid variability and planting location on dry grind ethanol production. *Transactions of the ASAE*, 48(2), 709-714.

Singh, V. (2012). Effect of corn quality on bioethanol production. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 1(4), 353-355.

Sofi, P.A., Shafiq, A.W., Rather, A.G., and Shabir, H.W. 2009. "Quality protein maize (QPM): Genetic manipulation for the nutritional fortification of maize." *J of P B and Crop Sci*. 1 (6):244-253.

Sprague, G. F., and Tatum, L. A., (1942). General versus specific combining ability in single crosses of corn. *Agronomy Journal* 34 (10):923-32.

Srichuwong, S., Gutesa, J., Blanco, M., Duvick, S. A., Gardner, C., and Jane, J. L., (2010). Characterization of corn grains for drier-grind ethanol production. *Journal of ASTM International* 7(2):1-10. ID JAI102568.

Srichuwong, S., & Jane, J. L. (2011). Methods for characterization of residual starch in distiller's dried grains with solubles (DDGS). *Cereal chemistry*, 88(3), 278-282.

Svihus, B., Uhlen, A. K., & Harstad, O. M. (2005). Effect of starch granule structure, associated components and processing on nutritive value of cereal starch: A review. *Animal Feed Science and Technology*, 122(3-4), 303-320.

Taylor, S. H., Hulme, S. P., Rees, M., Ripley, B. S., Woodward, F., and Osborne, C. P., (2010). Ecophysiological traits in C3 and C4 grasses: A phylogenetically controlled screening experiment. *New Phytologist* 185 (3):780–791. doi:10.1111/j.1469-8137.2009.03102.x.

Tester, R. F., & Debon, S. J. (2000). Annealing of starch—a review. *International journal of biological macromolecules*, 27(1), 1-12

Tester, R. F., Karkalas, J., & Qi, X. (2004). Starch—composition, fine structure and architecture. *Journal of Cereal Science*, 39(2), 151-165.

Tufvesson, F., Skrabanja, V., Björck, I., Elmståhl, H. L., & Eliasson, A. C. (2001). Digestibility of starch systems containing amylose–glycerol monopalmitin complexes. *LWT-Food Science and Technology*, 34(3), 131-139

United Nations Framework Convention on Climate Change, (2016). La convención del cambio climático (en línea). Disponible en: http://unfccc.int/portal_espanol/informacion_basica/la_convencion/items/6196.php. Consultado: 11/10/2016.

United Nations Framework Convention on Climate Change (2017). The Paris Agreement - main page. (en línea) Unfccc.int. Disponible en: http://unfccc.int/paris_agreement/items/9485.php Consultado: 14/12/2017.

Wang, Y. L., White, P. J., & Pollak, L. M. (1992). Thermal and gelling properties of maize mutants from the OH43 inbred line. *Cereal Chemistry*, 69(3), 328.

Wang, H., Wang, T., Johnson, L. A., & Pometto III, A. L. (2008). Effect of the corn breaking method on oil distribution between stillage phases of dry-grind corn ethanol production. *Journal of agricultural and food chemistry*, 56(21), 9975-9980.

Watson, S. A. (2003). Description, development, structure and composition of the corn kernel. *Corn: chemistry and technology*, 2, 69-106.

White, P. y Weber, E. (2003). Lipids of the kernel. In: White PJ, Johnson LA, editors. *Corn Chemistry and Technology*. Minnesota: American Association of Cereal Chemists, 355-405.

Wisner, R. (2015). November monthly renewable energy report. Distillers grains balance sheet. *Agricultural Marketing Resource Center: Ames, Iowa, IA, USA*.

Wu, X., Zhao, R., Bean, S. R., Seib, P. A., McLaren, J. S., Madl, R. L., ... & Wang, D. (2007). Factors impacting ethanol production from grain sorghum in the dry-grind process. *Cereal Chemistry*, 84(2), 130-136.

Zhan, X., Wang, D., Tuinstra, M. R., Bean, S., Seib, P. A., & Sun, X. S. (2003). Ethanol and lactic acid production as affected by sorghum genotype and location. *Industrial Crops and Products*, 18(3), 245-255.

9. RESUMEN

El almidón es la base de la producción de etanol a partir del grano de maíz y su biodisponibilidad varía según los cultivares, ya que los gránulos de almidón se incrustan en la matriz proteica del grano, reduciendo el acceso enzimático para su hidrólisis y consecuentemente la fermentación de los azúcares que lo conforman.

El conocimiento de los parámetros que determinan la calidad del grano de maíz para la producción de etanol y de los efectos genéticos que controlan cada carácter es básico para lograr avances en el mejoramiento genético. El objetivo de este trabajo fue estudiar la asociación existente en el rendimiento de bioetanol en líneas parentales de maíz y sus híbridos simples, a través de la evaluación de su rendimiento de etanol, la correlación con caracteres de calidad del grano y la determinación de la acción génica que controla los caracteres asociados. El experimento fue un diseño de bloques completos aleatorizados, con 2 repeticiones en Pergamino y Junín en la campaña 2015/16. El análisis de variancia, para todas las variables en estudio, a través de localidades mostró diferencias significativas para los genotipos, pero no para la interacción genotipo por ambiente. Las heredabilidades estimadas para el rendimiento de etanol mediante REML, sobre la base de promedios a través de 2 localidades y 2 repeticiones, oscilaron entre 0,81-0,93, y para el resto de las variables entre 0,76-0,97. Se encontró una correlación de 0,82 y 0,71 entre el rendimiento de etanol y el contenido de almidón para líneas e híbridos y una correlación negativa con el contenido de proteína (-0,81;-0,78) y el contenido de aceite (-0,75; -0,51) para líneas e híbridos, respectivamente

A través de un experimento dialélico método IV, modelo 1 de Griffing (1956), se encontró una mayor contribución de los efectos aditivos sobre los no aditivos (CM_{ACG}/CM_{ACE}) para todos los caracteres, indicando que es factible obtener progreso genético por selección.

10. ANEXOS

10.1. Análisis de la varianza a través de localidades para híbridos.

10.1.1 Etanol, almidón, proteína y contenido de aceite

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

Variables	F.V.	Etanol		Almidón		Proteína		Aceite		
		gl	F	p-valor	F	p-valor	F	p-valor	F	p-valor
(Intercept)		1	450153	<0,0001	233266	<0,0001	11754	<0,0001	52925	<0,0001
Ambiente		1	31,95	<0,0001	45,65	<0,0001	51,72	<0,0001	0,22	0,6445
Genotipo		9	12,62	<0,0001	10,41	<0,0001	8,97	<0,0001	40,19	<0,0001
Ambiente>Repeticion		2	11,46	0,0006	0,78	0,4719	0,57	0,5732	5,12	0,0173
Genotipo*Ambiente		9	0,51	0,8501	0,98	0,4862	0,31	0,96	1,48	0,2294

10.1.2. Perfil de ácidos grasos

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

Variables	F.V.	Palmitico		Estearico		Oleico		Linoleico		Linolenico		Saturados		
		gl	F	p-valor	F	p-valor	F	p-valor	F	p-valor	F	p-valor	F	p-valor
(Intercept)		1	20090	<0,0001	5809,6	<0,0001	5652	<0,0001	21025	<0,0001	10449	<0,0001	31960	<0,0001
Ambiente		1	0,19	0,6693	12,83	0,0021	2,18	0,1575	1,86	0,1897	1,744	0,2032	1,08	0,3122
Genotipo		9	13,84	<0,0001	11,18	<0,0001	11,79	<0,0001	19,82	<0,0001	26,98	<0,0001	23,68	<0,0001
Ambiente>Repeticion		2	0,06	0,9404	0,78	0,4715	0,12	0,8902	0,1	0,9079	0,07	0,9329	0,06	0,9417
Genotipo*Ambiente		9	0,54	0,8243	1,02	0,4618	0,85	0,5818	0,87	0,5655	1,434	0,2457	0,89	0,5532

11.1. Análisis de la varianza por localidad para híbridos.

11.1.1. Etanol, almidón, proteína y contenido de aceite

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

Localidad	Variables	gl	Etanol		Almidón		Proteína		Aceite	
			F-value	p-valor	F	p-valor	F	p-valor	F	p-valor
Pergamino	(Intercept)	1	170426	<0,0001	170426	<0,0001	4916,5	<0,0001	23764	<0,0001
	Repeticion	1	16,25	0,003	16,25	0,003	0,21	0,6613	3,99	0,0768
	Genotipo	9	5,38	0,0098	5,38	0,0098	5,07	0,0119	16,64	0,0001
Junín	(Intercept)	1	336845	<0,0001	111765	<0,0001	6975,5	<0,0001	29822	<0,0001
	Repeticion	1	1,65	0,2313	0,85	0,3804	0,98	0,3491	6,53	0,0309
	Genotipo	9	8,99	0,0016	5,37	0,0099	4,17	0,0225	26,05	<0,0001

11.1.2. Perfil de ácidos grasos

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

Localidad	Variables	Palmítico		Esteárico		Oleico		Linoleico		Linoléico		Saturados		
		gl	F-value	p-valor	F	p-valor	F	p-valor	F	p-valor	F	p-valor	F	p-valor
Pergamino	(Intercept)	1	22060	<0,0001	2458,1	<0,0001	3551,2	<0,0001	12718	<0,0001	5762	<0,0001	36569,76	<0,0001
	Repeticion	1	0,12	0,7336	0,83	0,3867	0,0009	0,9774	9E-04	0,9763	0	>0,9999	0,02	0,886
	Genotipo	9	16,82	0,0001	6,93	0,0041	6,7	0,0046	9,66	0,0012	12,73	0,0004	29,75	<0,0001
Junin	(Intercept)	1	6531,3	<0,0001	3435,9	<0,0001	2378,6	<0,0001	8910	<0,0001	4758	<0,0001	10138,26	<0,0001
	Repeticion	1	0	>0,9999	0,73	0,4139	0,19	0,6739	0,17	0,6923	0,13	0,7263	0,1	0,7606
	Genotipo	9	4,37	0,0193	5,14	0,0114	6,09	0,0064	10,84	0,0008	15,49	0,0002	7,33	0,0033

12.1. Análisis de la varianza a través de localidades para líneas.

12.1.1 Etanol, almidón, proteína y contenido de aceite

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	Variables	Etanol		Almidón		Proteína		Aceite		
		gl	F	p-valor	F	p-valor	F	p-valor	F	p-valor
	(Intercept)	1	132529	<0,0001	38660	<0,0001	12306	<0,0001	9238	<0,0001
	Ambiente	1	0,0003	0,9877	0,2	0,6695	11,01	0,0106	4,38	0,0698
	Genotipo	4	26,97	0,0001	21,53	0,0002	43,44	<0,0001	25,96	0,0001
	Ambiente>Repeticion	2	1,75	0,2347	5,87	0,027	0,61	0,5655	0,58	0,5797
	Genotipo*Ambiente	4	1,58	0,2689	0,77	0,5753	2,68	0,1099	0,77	0,5741

12.1.12. Perfil de ácidos grasos

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	Variables	Palmítico		Esteárico		Oleico		Linoleico		Linoléico		Saturados		
		gl	F	p-valor	F	p-valor	F	p-valor	F	p-valor	F	p-valor	F	p-valor
	(Intercept)	1	84580	<0,0001	3195,6	<0,0001	4318,7	<0,0001	12286	<0,0001	2520	<0,0001	37480	<0,0001
	Ambiente	1	0,17	0,6951	0,56	0,4764	2,33	0,1653	1,66	0,233	0	>0,9999	0,45	0,5218
	Genotipo	4	341,45	<0,0001	50,25	<0,0001	45,11	<0,0001	57,98	<0,0001	55	<0,0001	175,8	<0,0001
	Ambiente>Repeticion	2	2,58	0,1365	1,08	0,3832	0,32	0,7349	0,31	0,7429	2,86	0,1158	2,09	0,1863
	Genotipo*Ambiente	4	3,19	0,0761	0,87	0,5227	1,9	0,2037	1,89	0,2053	1,29	0,3521	1,54	0,2784

15.3. Correlación con etanol

Variable	Correlación con etanol	
	Híbridos	Líneas
ToG(°C)	0,0013	0,09
TpG(°C)	-0,13	0,02
RG(°C)	-0,20	-0,23
Δ HG (j/g)	0,27	0,2
Δ HG (cal/g)	0,27	0,2
PHI	0,28	0,28
ToR(°C)	-0,16	-0,31
TpR(°C)	-0,3	-0,29
RR(°C)	-0,06	0,23
Δ HR (j/g)	0,33	0,21
Δ HR (cal/g)	0,33	0,21
% R	0,16	0,11

15.4. Correlación con almidón

Variable	Correlación con etanol	
	Híbridos	Líneas
ToG(°C)	0,12	-0,08
TpG(°C)	0,05	-0,16
RG(°C)	-0,18	-0,15
Δ HG (j/g)	0,03	0,11
Δ HG (cal/g)	0,03	0,11
PHI	0,14	0,17
ToR(°C)	0,07	-0,25
TpR(°C)	-0,13	-0,17
RR(°C)	-0,32	0,26
Δ HR (j/g)	0,2	0,16
Δ HR (cal/g)	0,2	0,16
% R	0,16	0,12