



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO

**PROGRAMA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS
NATURALES**

**IDENTIFICACIÓN DE MAÍCES SOBRESALIENTES POR SU
POTENCIAL Y CALIDAD FORRAJERA EN EL VALLE DE TOLUCA-
ATLACOMULCO, ESTADO DE MÉXICO**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE DOCTOR EN CIENCIAS
AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES**

PRESENTA:

J. RAMÓN PASCUAL FRANCO MARTÍNEZ

COMITÉ DE TUTORES:

Dr. Andrés González Huerta. Tutor Académico

Dra. Delfina de Jesús Pérez López. Tutora Adjunta

Dr. Manuel González Ronquillo. Tutor Adjunto

**Campus Universitario el Cerrillo, Toluca, Estado de México, Noviembre de
2016**

IDENTIFICACIÓN DE MAÍCES SOBRESALIENTES POR SU POTENCIAL Y CALIDAD FORRAJERA EN EL VALLE DE TOLUCA-ATLACOMULCO, ESTADO DE MÉXICO

Tesis que fue realizada por el M. en C. J. Ramón Pascual Franco Martínez, bajo la asesoría del Comité Tutorial enseguida indicado, aprobada por el mismo Comité y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

DOCTOR EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

COMITÉ TUTORIAL:

TUTOR ACADÉMICO

DR. ANDRÉS GONZÁLEZ HUERTA

TUTORA ADJUNTA

DRA. DELFINA DE JESÚS PÉREZ LÓPEZ

TUTOR ADJUNTO

DR. MANUEL GONZÁLEZ RONQUILLO

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma del Estado de México (UAEMex), mi *Alma Mater*, agradecido por siempre por el apoyo otorgado para la consecución de mis estudios.

A mi amigo Dr. Andrés González Huerta, por su exorto, asesoría, apoyo y decidida participación en la dirección de la presente investigación, principalmente en el trabajo de campo.

Al Dr. Manuel González Ronquillo, por su amistad, apoyo y asesoría en la investigación desarrollada, en especial la de calidad de ensilados.

A la Dra. Delfina de Jesús Pérez López, por su confianza y apoyo otorgados durante el proceso de formación doctoral.

A los Drs. Manuel Antonio Pérez Chávez y Daniel Cardoso Jiménez, por las facilidades otorgadas en el Laboratorio de Bromatología del Centro Universitario Temascaltepec de la UAEMex, para efectuar los análisis de composición química.

A la Dra. Alejandra Donají Solís Mendez, por las facilidades prestadas en el Laboratorio de Nutrición Animal de la Facultad de Medicina Veterinaria de la UAEMex, para realizar los estudios de producción de gas y fermentación *in vitro*.

Al M. en C. Raafat Gomaa, por su valioso apoyo.

A mi hijo Lic. Erik Franco Tello, por su aportación en la edición de diversos productos de esta investigación durante mi programa de formación.

A todos los que de una u otra forma me apoyaron.

DEDICATORIAS

.Con amor para mi esposa Esperanza.

Para mis hijos Erik, Carlos Alberto y Juan Ramón, motivos de mi vida y superación.

Para mi mamá Magdalena y papá Ramón.

Para mis hermanos y en especial a José Luis ⁺.

Para los productores agropecuarios.

Para todas las personas que estimo.

CONTENIDO

	PAG.
LISTA DE CUADROS	vii
LISTA DE FIGURAS	viii
RESUMEN GENERAL	ix
ABSTRACT	x
I. INTRODUCCION	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA	4
2.1. Características del material usado	4
2.1.1. Maíz	4
2.1.2. Celulasa	6
2.1.3. Xilanasa	7
2.1.4. Aguamiel de maguey	8
2.2. Perspectivas del mejoramiento genético del maíz para forraje	8
2.3. Influencia de aditivos fibrolíticos en la composición química del forraje de maíz	11
2.4. Influencia de aditivos fibrolíticos en la producción de gas <i>in vitro</i> del forraje de maíz	13
2.5. Influencia de aditivos fibrolíticos en la fermentación <i>in vitro</i> del forraje de maíz	14
III. MATERIALES Y METODOS	17
3.1. Identificación de maíces forrajeros sobresalientes	17
3.2. Calidad forrajera de maíces sobresalientes	18
3.2.1. Sitio de trabajo	18
3.2.2. Material evaluado	18
3.2.3. Composición química	19
3.2.4. Producción de gas <i>in vitro</i>	20
3.2.5. Calculos	20
3.2.6. Análisis estadístico	22
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	23
Artículo 1: Caracterización fenotípica de híbridos y variedades de maíz forrajero en Valles Altos del Estado de México, México	24
Artículo 2: Effect of xylanase, cellulase or natural maguey extracto n chemical Composition and <i>in vitro</i> rumen gas production of corn silage	49
V. CONCLUSIONES GENERALES	69
VI. LITERATURA COMPLEMENTARIA	70

LISTA DE CUADROS

CUADRO		PAG
1	Características de las localidades	30
2	Material genético evaluado	31
3	Cuadrados medios y significancia estadística de los valores de F para producción de forraje y variables relacionadas	35
4	Comparación de medias para producción de forraje de maíz y variables relacionadas evaluadas en cuatro localidades del Valle Toluca-Atacomulco, Estado de México	37
5	Comparación de medias entre 29 genotipos de maíz	43
1	Chemical composition (g kg ⁻¹ DM) of four corn varieties (V) Trated with maguey extract, cellulose and xylanase	67
2	Gas production (ml gas g ⁻¹ DM) and ruminal <i>in vitro</i> fermentation parameters in for corn silage varieties (V) trated with maguey extract, cellulose and xylanase	68

LISTA DE FIGURAS

FIGURA		PAG.
1	Localidades de estudio ubicadas en los Municipios de Metepec, Almoloya de Juárez, Toluca y Jocotitlan, Valle de Toluca-Atlacomulco, México	17
1	Interrelación entre 29 cultivares de maíz y 11 variables agronómicas	38
2	Agrupamiento de 29 maíces considerando 11 variables agronómicas. Metodo de media aritmética no ponderada	40

RESUMEN GENERAL

Para trabajar con la producción y calidad del forraje de maíz se realizaron dos experimentos. El primero se hizo en 2013, para identificar cultivares forrajeros sobresalientes para el Valle Toluca-Atlacomulco, México. 29 cultivares fueron evaluados en campo bajo un diseño experimental de bloques completos al azar con tres repeticiones por sitio. El análisis de los datos a través de las cuatro localidades se hizo como una serie de experimentos en espacio. Los resultados mostraron que las mejores localidades para la evaluación del material genético fueron Metepec y Tiacaque. Los cultivares Victoria, H-159 y SBA-470 constituyeron la fracción superior de los programas de hibridación y las variedades Amarillas Allende, San Cayetano y Portes Gil, las Blancas Tlacotepec, San Diego y Cacahuacintles Tlacotepec y San Cristóbal, fueron las de mejor comportamiento. Las mayores producciones en forraje verde y seco se explican por aumentos significativos ($P < 0.05$) en número de hojas por planta, floración masculina, altura de planta, y producciones de materia verde y seca de elote, tallos y hojas. El segundo experimento considero la aplicación de 1 ml kg^{-1} materia verde (MV) de xilanasa (XYL), celulasa (CEL) y aguamiel de maguey (AGUAMIEL) a los ensilados de las variedades de maíz San Diego, Cacahuacintle, P-1832 y Victoria, seleccionados del experimento uno, para evaluar su composición química (CQ), producción de gas (PG) y fermentación ruminal *in vitro*. Se usó un diseño de bloques completos al azar con arreglo factorial. Se efectuó ANOVA y prueba de Tukey. Se encontró efecto significativo ($P < 0.05$) en la CQ para todas las variables del factor variedades, excepto para MO, y para los aditivos excepto para FDN. La PG incremento significativamente ($P < 0.01$) de manera ascendente desde las 3 h hasta las 96 h. La XYL, CEL y AGUAMIEL afectaron significativamente ($P < 0.01$) la DMD, DMO, EM, AGCC, PPCM, $\text{PG}_{24\text{h}}$ y RGP. De los resultados se infiere que la adición de XYL, CEL y AGUAMIEL promueven el incremento de proteína, la actividad hidrolítica y degradación de la fibra en los ensilados de maíz. Los cultivares más sobresalientes podrían emplearse para derivar líneas endogámicas y formar nuevas variedades e híbridos forrajeros.

ABSTRACT

In order to work with the production and quality of corn stover, two experiments were conducted. The first was made in 2013 to identify outstanding stover cultivars for Toluca-Atlaquemulco Valley, Mexico. Twenty nine cultivars were evaluated in field under an experimental design of randomized complete block with three replicates per site. The data analysis through the four locations was done as a series of experiments in space. The results showed that the best locations for the evaluation of genetic material were Metepec and Tiacaque. Victoria, H-159 and SBA-470 cultivars were the top fraction of hybridization programs and the varieties the yellow Allende, San Cayetano and Portes Gil, the white Tlacotepec, San Diego and Cacahuacintles Tlacotepec and San Cristobal were the best performers. The higher yields in green and dry matter are explained by significant increases in number of leaves per plant, male flowering, plant height, and production of green and dry corn matter, stalks and leaves. The second experiment included the application of 1 ml kg⁻¹ MV xylanase (XYL), cellulase (CEL) and aguamiel of maguey (AGUAMIEL) to the corn silage varieties San Diego, Cacahuacintle, P-1832 and Victoria, selected from experiment one, to evaluate their chemical composition (CC), gas production (GP) and ruminal fermentation in vitro. A randomized complete block design with factorial arrangement was used. ANOVA and Tukey test was performed. Significant ($P < 0.05$) effect was found in the CC for all varieties factor variables except for OM, and for additives except for NDF. The GP significantly increased ($P < 0.01$) in ascending order from 3 h to 96 h. The XYL, CEL and AGUAMIEL affected significantly ($P < 0.01$) the DMD, OMD, ME, SCFA, MCP, GP_{24h}. From the results it follows that the addition of XYL, CEL and AGUAMIEL promote an increase in protein, hydrolytic activity and fiber degradation in corn stover. The most outstanding cultivars could be used to derive inbred lines and form new corn stover varieties and hybrids.

I. INTRODUCCIÓN

De los cultivos cuyo centro de origen y diversidad es México, el maíz (*Zea mays* L.) es el de mayor importancia a escala nacional y mundial, por su superficie sembrada así como por el volumen de producción (FAO, 2009). Históricamente los esfuerzos de reproducción en este cultivo se han centrado en la mejora del rendimiento de grano y recientemente también en la utilidad potencial de su rastrojo (biomasa aérea excluyendo el grano). Actualmente existe un creciente interés en ampliar la base genética de los programas de mejoramiento de maíz en todo el mundo, no solo para mejorar el rendimiento de grano, sino también para mejorar la composición del ensilaje y el rastrojo (Muttoni *et al.*, 2013). El ensilaje es una forma de conservar el forraje en húmedo mediante fermentación para preservar su calidad nutritiva por un largo periodo de tiempo, lo más cercano a la que tenía al momento de ser cosechado (Harris, 2003).

El forraje de maíz se utiliza en la alimentación animal, por su alto contenido de biomasa aérea de 35 a 95 toneladas por hectárea ($t\ ha^{-1}$) (Castillo *et al.*, 2009); su forraje es muy utilizado y apreciado en la producción animal por su valor energético (Bates, 1998). Se utiliza en la crianza de todo tipo de rumiantes, pero tiene especial importancia para el ganado lechero, debido a que la producción de leche es altamente dependiente de la cantidad de energía que consume la vaca lactante (Staples, 2003); pero también su forraje presenta algunas características poco deseables, como su bajo valor nutritivo dado su bajo contenido de proteína (63 a 95 $g\ kg^{-1}$) y alta concentración de fibra (447 a 633 $g\ kg^{-1}$ FDN (Nuñez *et al.*, 2001; Vallejo *et al.*, 2016).

Sobre esto último, varios estudios se han centrado sobre la degradación de los alimentos fibrosos en rumiantes usando aditivos como ionoforos, microbios y enzima degradantes de la pared celular o enzimas exógenas degradantes de fibra que estimulan la actividad de microorganismos del rumen digestivo (Kung *et al.*, 2000; Nsereko *et al.*, 2002; Giraldo *et al.*, 2004), específicamente con la adición de enzimas fibrolíticas exógenas (EFE) como celulasa o xilanasas se aumenta la degradación y fermentación del forraje de maíz (Valdés *et al.*, 2015; Vallejo *et al.*, 2016), así como la influencia de extractos de plantas como *Salix babylonica* en la alimentación animal (Cedillo *et al.*, 2014; Salem *et al.*, 2014).

En México existe una creciente demanda de buen forraje de maíz, dado el crecimiento de la ganadería productora de carne y especialmente la de leche, pero su calidad sigue siendo un problema debida a su baja proteína y digestión de su pared celular; situación que poco ha sido atendida, ya que regionalmente, el mejoramiento genético que se continua realizando en la Meseta Central de México se ha enfocado principalmente a la obtención de cultivares de mayor producción de grano, pero se han descuidado sus atributos de calidad y propiedades forrajeras.

De acuerdo a lo anterior se tuvo como:

Hipótesis

La superioridad de los híbridos de doble propósito sobre las variedades criollas se atribuye principalmente a su mayor producción de materia verde y materia seca, mayor resistencia al acame y mayor calidad del forraje con el uso de aditivos.

Y como:

Objetivo General

Identificar maíces sobresalientes por su alto rendimiento y calidad del forraje influida por la aplicación de aditivos, como alternativa para programas de mejoramiento genético o de generación de tecnología.

Objetivos Específicos

- Evaluar 10 híbridos y 19 variedades criollas por su producción de forraje y caracteres relacionados en cuatro ambientes de Valles Altos del Estado de México.
- Analizar la composición química, la degradación y la fermentación de la materia seca de ensilados de dos híbridos y dos variedades criollas de maíz tratados con las enzimas xilanasa y celulasa y aguamiel de maguey.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Características del material usado

2.1.1. Maíz

El maíz (*Zea mays* L.) es la forma domesticada de la gramínea silvestre Mexicana conocida como Teocintle Raza Balsas, siendo Mesoamérica centro de origen y diversidad genética, en México se tienen identificadas 59 razas (Sánchez y Goodman, 1992a; Sánchez *et al.*, 2000; Doebley, 2004; Kato *et al.*, 2009). Dentro de la diversidad de maíz en México, uno de los grupos de mayor interés es el conocido como Complejo Piramidal Mexicano, que incluye a las razas Palomero Toluqueño, Arrocillo Amarillo, Cónico, Elotes Cónicos, Cacahuacintle, Chalqueño y Purépecha, todas cultivadas en Valles Altos (Mijangos-Cortés *et al.*, 2007; Rocandio-Rodríguez, 2014), ubicados desde los 2200 metros sobre el nivel del mar (msnm) a más altura, cuya siembra se realiza a bajas densidades de población (40 000 plantas ha⁻¹), son susceptibles a enfermedades y al acame de raíz y tallo (Polanco y Flores, 2008). En México cada año se siembran alrededor de 8 millones de ha y se cosechan alrededor de 7 millones de ha (Turrent *et al.*, 2014); de esta superficie el 25% se siembra con híbridos, adquiridos del mercado en cada ciclo; otro 25% se siembra con variedades de polinización libre autoproducidas, que derivan del cruzamiento entre los maíces mejorados y las razas nativas (híbridos o variedades acriolladas); el 50% restante se siembra con razas nativas (Espinoza *et al.*, 2012; Turrent *et al.*, 2012).

La raza Cónico de maíz es probable que se haya obtenido de la cruce de la raza Palomero Toluqueño de frutos duros con la raza Cacahuacintle de frutos blandos, cuya dureza de frutos

es intermedia entre la de los progenitores, pero con una adaptación mucho mas amplia (Wellhausen *et al.*, 1951; Miranda, 1996), esta raza existe desde hace por lo menos 2000 años (Aguirre y Miranda, 2002), surgió durante la tercera etapa de domesticación del maíz, en la cual se descubrió la cerámica, que permitió incrementar sus usos; este maíz de granos dentados se originó en los Valles Altos del eje transversal volcánico de México y de esta región emigro hacia el norte, hasta llegar a los Estados Unidos de Norteamérica (Miranda, 1998). Recibió su nombre de la forma cónica de su mazorca, se cultiva entre los 2200 y 2800 m de altitud, es el más solicitado para las siembras de temporal o secano en las regiones altas de los Estados de Veracruz, Tlaxcala, Puebla, México, Michoacán, Jalisco, Querétaro, Guanajuato y Zacatecas; la planta desarrolla una espiga con 5 a 6 ramificaciones; tiene 11 hojas en promedio y requiere de 90 días para la antesis (Wellhausen *et al.*, 1951). Se desarrolla bien con lluvias de 696 a 733 mm presentes principalmente durante julio, agosto y septiembre (Ruiz *et al.*, 2013). Esta raza ha dado origen a gran número de variedades que mantienen su identidad y variabilidad genética en forma de criollos locales (Nava y Mejía, 2002).

La raza Chalqueño de maíz tiene como origen probable la región de Chalco-Amecameca, Estado de México, de donde toma su nombre (Wellhausen *et al.*, 1951); guarda relación y semejanza con las razas Palomero Toluqueño, Cónico y Cacahuacintle (Wellhausen *et al.*, 1951; Doble *et al.*, 1985; Sánchez y Goodman, 1992b). Este maíz se cultiva principalmente en extensas áreas de los Valles Altos Centrales de México (1900 a 2700 msnm). Las plantas son usualmente altas, son tolerantes a la sequía y a bajas temperaturas pero susceptibles a las heladas; la mayoría de los productores conservan poblaciones nativas por periodos de 20 o más años (Romero *et al.*, 2002). Se desarrolla convenientemente con precipitaciones de 696 a

733 mm, caídos principalmente durante julio, agosto y septiembre (Ruiz *et al.*, 2013). Ha dado origen a una gran diversidad de variedades que mantienen su identidad y variabilidad genética en forma de criollos locales (Nava y Mejía, 2002).

La raza Cacahuacintle es un maíz blanco, harinoso y de semillas grandes y blandas (Wellhausen *et al.*, 1951; Miranda, 1996).

El uso de variedades e híbridos en Latinoamérica está concentrado en zonas específicas, con una superficie sembrada inferior a 32%, como en México (20.3%), América Central (21.8%) y el Caribe (31.3%) (Reynoso *et al.*, 2014). En México ninguna variedad de maíz mejorada se ha desarrollado para producción y calidad forrajera, solo se han generado para producción de grano (Peña *et al.*, 2004); actualmente las opciones que ofrece el mercado en híbridos forrajeros siguen siendo limitadas (Peña *et al.*, 2012).

2.1.2. Celulasa

Las celulasas son enzimas inducibles sintetizadas por una gran diversidad de microorganismos, incluyendo hongos y bacterias (Sang-Mok y Koo, 2001). Los microorganismos pueden ser aerobios, anaerobios, mesófilos o termófilos; entre ellos los generos *Clostridium*, *Cellulomonas*, *Thermomonospora*, *Trichoderma* y *Aspergillus* son los productores de celulasa más ampliamente estudiados (Sun y Cheng, 2002), de este último la especie *A. niger* es reconocida productora de celulasas (Onsori *et al.*, 2005). Las celulasas fúngicas son más simples en comparación a las celulasas bacterianas, celulosomas; aunque la degradación de la celulosa por las bacterias aeróbicas es similar a la de los hongos aeróbicos,

es evidente que las bacterias anaerobias operan en un sistema diferente (Bayer *et al.*, 1994; Percival *et al.*, 2006).

La celulasa es una familia de al menos tres grupos de enzimas, que son: endo-(1,4)- β -D-gluconasa (EC3.2.1.4), exo(1,4)- β -D-gluconasa (CE3.2.1.91) y β -glucosidasa (CE3.2.1.21) (Percival *et al.*, 2006; Deswal *et al.*, 2011).

Las celulasas microbianas se han convertido en el foco biocatalizador debido a su naturaleza compleja y amplias aplicaciones (Henrissat *et al.*, 1998); por ejemplo en la alimentación animal, su adición en la dieta de los rumiantes mejora la digestión de la fibra (Alserly *et al.*, 2015; Salem *et al.*, 2015).

2.1.3. Xilanasas

Las xilanasas incluyen las endoxilanasas, las cuales generan oligómeros de xilosa y las β -1-4 xilosidasas, que hidrolizan las xilosas. Las hemicelulasas más importantes involucradas en la degradación de la hemicelulosa, son las xilanasas (E.C.3.2.1.8) y las β -1-4 xilodasas (E.C.3.2.1.37) (Bhat y Hazlewood, 2003). El xilano es el componente principal de la hemicelulosa y por la acción de un complejo sistema enzimático es hidrolizado y convertido en azúcares constituyentes (Breccia *et al.*, 1998). Los sistemas enzimáticos xilanolíticos están conformados por bacterias y hongos (Wong *et al.*, 1988). Las enzimas xilanolíticas más estudiadas en hongos han sido las endoxilanasas y las β -xilosidasas (Polizeli *et al.*, 2005). Diferentes cepas de *Aspergillus niger* son reconocidas productoras de xilanasas (Park *et al.*, 2002; Wu *et al.*, 2005), pero se ha observado que el hongo *Trametes* sp. EUM1 produce mayor cantidad de xilanasas que *Pleurotus ostreatus* IE8 y *Aspergillus niger* AD94.6 (Márquez-

Araque *et al.*, 2007). El pH óptimo de las enzimas fibrolíticas producidas por hongos aeróbicos oscila de 4.0 a 6.0 (Muzakhar *et al.*, 1998).

2.1.4. Aguamiel de maguey

El maguey (*Agave* ssp.) pertenece a la familia *Agavaceae* y México se considera centro de origen de este género (García-Mendoza, 1995; Nobel, 1998), con 136 a 150 especies (Rzedowski y Calderón, 1990; Nobel, 1998), que se desarrollan en ambientes limitados como suelos someros, infértiles y secos (García-Mendoza, 1995). Uno de los principales productos que produce esta planta es el aguamiel (González *et al.*, 2004). Existe una gran diversidad de agaves que producen aguamiel, pero las principales especies son *A. salmiana*, *A. mapisaga* y *A. atrovirens*, que se distribuyen principalmente en el Valle de México, en los estados de México, Tlaxcala, Hidalgo y Puebla (Rzedowski y Calderón, 1990). El aguamiel es un líquido dulce, ácido o ligeramente alcalino, transparente, con olor herbáceo; tiene una composición donde destaca la humedad, glucosa, fructuosa, maltosa, sacarosa, sustancias minerales y proteínas (Flores *et al.*, 1996). Las plantas de este género almacenan fructanos (polímero de fructosa) como principal carbohidrato de reserva (López *et al.*, 2003; Mancilla-Margalli y López, 2006).

2.2. Perspectivas del mejoramiento genético del maíz para forraje

En el contexto de amplitud de adaptación ambiental y características morfológicas apropiadas para diversos usos, las poblaciones de maíz se agrupan con base en la categoría de Raza, lo que implica valorar la diversidad de poblaciones consideradas como variantes de una raza, con el propósito de diseñar el aprovechamiento de algunas formas dentro de la diversidad genética

regional de la especie (Rocandio-Rodríguez, 2014). Las razas de maíz con frecuencia poseen mejor adaptación a ciertas condiciones locales que las variedades mejoradas (Smith *et al.*, 2001); las conservadas *in situ* son más rústicas, tolerantes y con mejor adaptación a cambios climáticos (Mercer y Perales, 2010). La diversidad genética de una especie representa la variación heredable dentro y entre estas sus poblaciones, y en las especies cultivadas ésta tiene trascendencia pues es sobre la que operan los procesos de selección que aplican los agricultores y fitomejoradores (Montes-Hernández *et al.*, 2014). El aprovechamiento de la diversidad del maíz en una región debe enfocarse a detectar poblaciones para enriquecer la variación usada en los programas de mejoramiento y a evitar la pérdida de la diversidad útil que han generado y conservado los agricultores (Castro *et al.*, 2013).

Debido a una estructura genómica única y al proceso de selección humana continuo, el maíz es una de las especies más plásticas en términos de su adaptación ambiental, capaz de desarrollarse a altas y bajas altitudes, y en climas tropicales, subtropicales y templados (Hayano *et al.*, 2009). La diversidad genética de sus materiales y el aprovechamiento integral de sus cultivos, son alternativas para escapar de algunos desastres naturales provocados por los cambios climáticos (Gámez *et al.*, 2014); en donde el efecto del medio ambiente es el resultado de una combinación de componentes que interactúan incluyendo los factores abióticos y bióticos, que influyen el crecimiento y desarrollo vegetal y por lo tanto, la composición de la pared celular y la digestibilidad (Muttoni *et al.*, 2013); en este caso Van Soest (1994) menciona que la temperatura es la principal variable ambiental que afecta la calidad del forraje y conjuntamente con las grandes altitudes contribuyen a un proceso retrasado de lignificación; haciendo alusión que los mutantes de maíz de nervadura café, que

tienen altos valores de digestibilidad, fueron originalmente descubiertos en una colección de variedades mexicanas de las tierras altas.

En el incremento de la producción tanto de grano como forraje, se requieren híbridos y variedades de alto rendimiento, con tolerancia a factores abióticos y bióticos que afectan al maíz en las diferentes áreas agrícolas (Peña *et al.*, 2010); los granos tienen la mejor digestibilidad para la alimentación del ganado (Tang *et al.*, 2006; Estrada-Flores *et al.*, 2006); y una forma de mejorar los rendimientos de biomasa por ha es aplicar mayores densidades de siembra o hacer plantas más altas, con hojas más grandes o con mayor número de ellas, y con base en esto último favorecer el rendimiento energético (Zsubori *et al.*, 2013) ; ya que de acuerdo a Tang *et al.* (2006) y Sun *et al.* (2009), el contenido de energía de las hojas es mayor; en este sentido Thomas *et al.* (2001) y Clark *et al.* (2002), mencionan que las vacas alimentadas con ensilaje realizado con híbridos de mayor número de hojas producen más leche con mejor calidad, en comparación con las alimentadas con los convencionales híbridos no isogénicos; por lo que Esquivel *et al.* (2013), opinan que en todo programa de mejoramiento genético, la elección del germoplasma progenitor es una de las decisiones más importantes que se deben tomar para conocer su componente genético; en donde según Buxton y Casler (1993), pronuncian que la existencia de la variación genética de la digestibilidad es suficiente para justificar el desarrollo de genotipos con la mejora de la calidad del forraje; lo cual es aseverado por Muttoni *et al.* (2013), quienes de acuerdo a resultados apoyan la reconocida importancia de la digestibilidad de la pared celular como el componente principal para la mejora de la calidad del forraje.

2.3. Influencia de aditivos fibrolíticos en la composición química del forraje de maíz

Las estructuras morfológicas de los tejidos celulares de los forrajes conocidas como paredes celulares primarias y secundarias, le proporcionan rigidez física, permiten el transporte de agua y protegen contra el ataque de plagas (Paulson *et al.*, 2008). De acuerdo a Aman (1993) las paredes celulares de los forrajes están compuestas por polisacáridos, proteínas, lignina, grupos acetilos y componentes fenólicos, formadas por pentosas (arabinosa y xilosa), hexosas (glucosa, galactosa y manosa), 6-deoxi hexosas (ramanosa y fucosa) y ácidos urónicos (galacturónico, glucorónico y 4-O-metil glucorónico).

El forraje es la principal fuente de alimentación de los rumiantes. Los rumiantes presentan un ecosistema diverso y sofisticado para utilizar carbohidratos fibrosos de la pared celular vegetal de los forrajes como el maíz, debido a la relación simbiótica con la población microbiana variada en el rumen (Settimi *et al.*, 2013), pero la digestibilidad total de la pared celular en el tubo digestivo es de tan solo 65% (Van Soest, 1982); situación donde las EFE de origen micotico o bacteriano como xilanasas, celulasas, esterases y lacasas, han sido ampliamente usadas para mejorar el valor nutritivo del alimento para rumiantes (Bhat y Hazlewood, 2003; Beauchemin *et al.*, 2003; Graminha *et al.*, 2008). Las EFE son más eficaces cuando se aplican en forma líquida al alimento antes de la ingestión, ya que pueden ayudar a eliminar las barreras estructurales que limitan la digestión microbiana del alimento en el rumen, favoreciendo la liberación de carbohidratos solubles (Beauchemin *et al.*, 2004).

Las enzimas fibrolíticas exógenas como xilanasas, celulasas no son sintetizadas por los microorganismos ruminales, siendo adicionadas al alimento para aumentar la degradación de

la fibra (Meraz-Romero *et al.*, 2012); ya que debido al alto contenido de fibra de los alimentos fibrosos las enzimas ruminales no pueden acceder a la pared celular vegetal y se reduce la digestibilidad de los alimentos (Togtokhbayar *et al.*, 2015). Por su estructura compleja y heterogénea, la degradación de la fibra por hongos requiere de un complejo sistema enzimático, en el que las polisacaridasas (xilanasas y celulasas) actúan en conjunto con enzimas lignolíticas (Eichlerová *et al.*, 2000); en este sentido el tratamiento de materiales lignocelulosicos con el hongo *Pleurotus ostreatus* (productor de xilanasas y celulasas) ocasiona cambios en la composición química, reduciendo las fracciones fibra neutro detergente (FND), fibra ácido detergente (FAD), celulosa y hemicelulosa (Fazaeli *et al.*, 2003; Marquez-Araque *et al.*, 2007).

Las enzimas fibrolíticas mejoran la degradación de la MS tanto *in vitro* como *in sacco* (Gallardo *et al.*, 2010). Al disminuir el pH de 6.5 a 5.5 se reduce la desaparición de MS de ensilaje de maíz, esta desaparición fue más pronunciada en ausencia de enzimas añadidas y con un pH bajo (McAllister *et al.*, 2001). La adición de enzimas al alimento puede crear un complejo enzima-alimento estable que protege a las enzimas de la proteólisis ruminal (Kung *et al.*, 2000).

La adición de enzimas exógenas está influenciada por factores como la composición de la dieta, tipo de preparación enzimática, estabilidad de la enzima, actividades enzimáticas específicas, método de aplicación y la cantidad de enzimas añadidas (Yang *et al.*, 2000; Wallace *et al.*, 2001); así como el pretratamiento de la comida, el pH, la susceptibilidad de las enzimas exógenas al ataque de las enzimas endógenas, la concentración de enzimas endógenas y el tipo de ingrediente utilizado en la dieta (Acamovic y MaClearly, 1996).

Al utilizar preparaciones específicas de enzimas fibrolíticas en estudios *in vitro* se obtuvo aumento de la tasa de desaparición inicial de MS o de la tasa de desaparición de la FND del forraje (Dawson y Tricarico, 2007).

La aplicación directa de un complejo enzimático formado por celulasa, β -glucosidasa y xilanasa, sobre forraje de maíz favorece la formación de un complejo enzima-sustrato estable, que aumenta la eficacia de las enzimas exógenas en el rumen (Settimi *et al.*, 2013); y también su aplicación previa a la ingestión puede aumentar la unión de la enzima con el sustrato, lo cual puede aumentar su resistencia a la proteólisis ruminal (Beauchemin *et al.*, 2004).

2.4. Influencia de aditivos fibrolíticos en la producción de gas *in vitro* de forraje de maíz

En un estudio al trabajar con xilanasa y celulasa a las dosis de 10, 20, 40 y 80 mg g⁻¹ MS de forraje de maíz, se aumentó la producción de gas (PG) a diferentes horas de incubación, obteniendo la mayor PG al adicionar 40 mg g⁻¹ MS tanto de xilanasa como de celulasa, pero con 80 mg g⁻¹ MS de xilanasa se obtuvo la menor PG (Vallejo *et al.*, 2016). Por su parte Yang *et al.* (2000) y Beauchemin *et al.* (2003), mencionan que con altos niveles de enzimas adicionadas, se tiene reducción de impactos de acuerdo al sustrato usado. Al adicionar 10 ml de una multienzima fibrolítica (celulasa, β -glucosidasa y xilanasa) en 17 g de MS de forraje de maíz, se mejoró la digestibilidad a las 12, 24, 48, y 96 h de incubación (Settimi *et al.*, 2013). Cysneiros *et al.* (2006), no observaron efectos sobre la desaparición ruminal de MS al adicionar 5, 10 y 20 mg de enzimas fibrolíticas por kg de ensilado de maíz a las 6, 24 y 96 h. El aumento del nivel de enzimas a partir de 1x a 5x aumento la velocidad y grado de PG, pero la adición a 10x niveles no es eficaz (Colombatto *et al.*, 2003).

En el modo de acción con la adición de las EFE a la dieta de rumiantes aumenta la capacidad hidrolítica del rumen, debido a un incremento en el ataque bacteriano, a la estimulación de poblaciones microbianas del rumen y a un efecto sinérgico con las hidrolasas de los microorganismos ruminales (Beauchemin *et al.*, 2004); estando de acuerdo al aumento de bacterias fibrolíticas y no fibrolíticas en el rumen y la producción de proteína cruda microbiana (PCM) al agregar xilanasas y celulasas en forraje de maíz (Vallejo *et al.*, 2016), llegando a la mejora del valor nutritivo de los alimentos y crear estabilidad entre el complejo enzima-alimento (Kung *et al.*, 2000).

El aumento en la PG *in vitro* con el uso de enzimas puede permitir un mayor consumo voluntario de alimentos (Gado *et al.*, 2009). Situación donde Rojo *et al.* (2015) trabajando con cabras lactantes suplementadas con celulasa consumieron aproximadamente el 11% más de MS, materia orgánica (MO) y FND en comparación con las cabras control, incrementando su producción de leche y mejorando su composición.

2.5. Influencia de aditivos fibrolíticos en la fermentación *in vitro* de forraje de maíz

Aunque los microorganismos del rumen pueden digerir la celulosa y otros carbohidratos fibrosos, factores relacionados con la estructura de la planta y de la composición, tales como las interacciones físico-químicas entre la matriz de la hemicelulosa y lignina, así como los aspectos relacionados con el animal, tales como la masticación, salivación y pH ruminal, pueden limitar la digestión de la comida en el rumen (Martins *et al.*, 2006). El pH ruminal de la digestión de la fibra se modula a través del efecto que tiene la adhesión bacteriana en los sustratos de fibra, porque las bacterias fibrolíticas son muy sensibles a los cambios de pH

ruminal (Sung *et al.*, 2007). En este sentido Tajima *et al.* (2001) comentan que el pH ruminal superior a 6.0 es más adecuado para la actividad fibrolítica microbial que un pH menor a 6.0, cambiando la población microbiana ruminal de fibrolítica a amilolítica., cuando esta es menor a un pH de 6.

Settimi *et al* (2013) al trabajar con xilanas, celulasas y β -glucosidasas producidos por el hongo *Humidicola grisea*, observaron que el aumento de la digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS) del forraje de maíz es el resultado de la actividad hidrolítica de las enzimas en el sustrato. Por su parte Morgavi *et al.* (2001) demostraron sinergismo entre enzimas exógenas y ruminales, de tal manera que el efecto combinado hidrolítico en el rumen es mayor que el estimado a partir de las actividades enzimáticas individuales.

Los ensayos *in vitro* se usan para evaluar la eficiencia de los diferentes grupos de enzimas sobre la digestibilidad de las dietas que se ofrecen a los rumiantes (Colombatto *et al.*, 2003). Con la adición de una multienzima (endo gluconasa, xilanas, α -amilasa y proteasa) a los alimentos para rumiantes, se aumentó la digestión de la MS y fibra (Gado *et al.*, 2009); pero disminuyó linealmente la proteína microbiana (PCM) al aplicarla en cuatro materiales fibrosos, en comparación al control (Elghandour *et al.*, 2013).

El mayor contenido de fibra y la superficie de la epidermis de la planta con una alta concentración de sílice impide el acceso de las enzimas ruminales a la pared celular de la planta y reduce la digestibilidad de los nutrientes (Kholif *et al.*, 2014).

La adición de 40 mg g⁻¹ MS de xilanas y celulasas en forraje de maíz redujeron el pH y aumentaron la digestibilidad de la materia orgánica (DMO), energía metabolizable (EM),

ácidos grasos de cadena corta (AGCC) y PCM (Vallejo *et al.*, 2016). Por otra parte Omar *et al.* (2009), observaron que los suplementos de enzimas en las raciones mejora la digestibilidad y las concentraciones de AGCC.

Con el uso de EFE la celulosa del forraje de maíz se digiere con mayor facilidad que otras fuentes de celulosa y hemicelulosa, destinadas a la alimentación de rumiantes (Yescas-Yescas *et al.*, 2004), y se incrementa la energía digestible en la producción de rumiantes (Beauchemin y Holtshausen, 2011).

Las EFE pueden permanecer viables en el intestino delgado durante un tiempo suficiente para tener un efecto hidrolítico, cuando se administran directamente en el rumen o cuando se adicionan en alimentos húmedos o en concentrados que permitan una fácil solubilidad en el alimento y un rápido paso en el rumen (Beauchemin *et al.*, 2004).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Identificación de maíces forrajeros sobresalientes

Las características del área de estudio, el material genético evaluado, la metodología de establecimiento del experimento, las variables medidas y la metodología de análisis de la información para el experimento uno, se encuentran descritas en el artículo uno. Para apoyar la descripción del área de estudio se presenta la Figura 1.

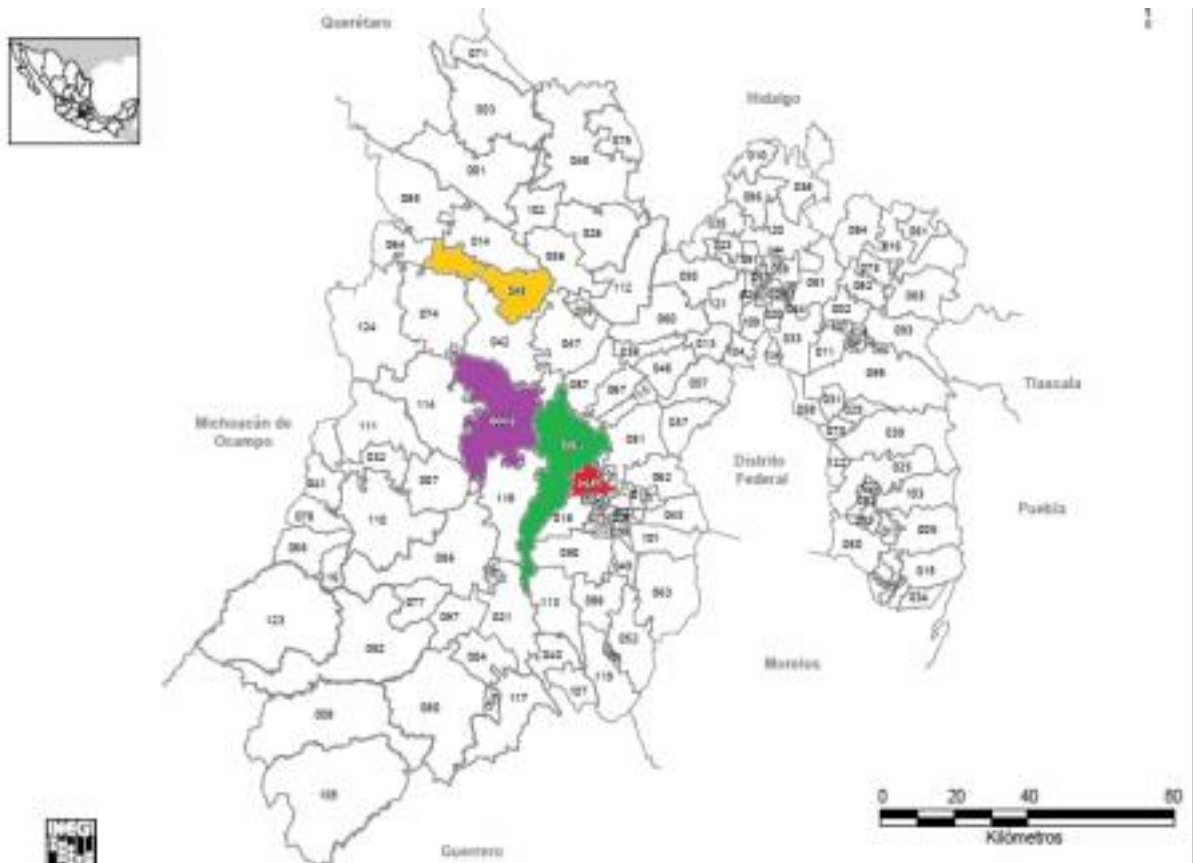


Figura 1. Localidades de estudio ubicadas en los Municipios de Metepec, Almoloya de Juárez, Toluca y Jocotitlan, Valle de Toluca-Atlacomulco, Estado de México.

3.2. Calidad forrajera de maíces sobresalientes

3.2.1. Sitio de trabajo

Los trabajos del experimento dos se realizaron en la Posta Zootécnica y Laboratorio de Nutrición Animal de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, y en el Laboratorio de Bromatología del Centro Universitario Temascaltepec de la Universidad Autónoma del Estado de México, durante octubre de 2013 a diciembre de 2014.

3.2.2. Material evaluado

Se evaluaron cuatro variedades de maíz, las cuales fueron dos variedades criollas Cacahuacintle Tlacotepec (grano blanco) y San Diego (grano amarillo) y dos Híbridos P-1832 (grano amarillo) y Victoria (grano blanco), seleccionados por su buen potencial forrajero del experimento uno. El corte de las plantas se efectuó cuando los granos de elote alcanzaron un estado masoso, siendo a los 155, 149, 176 y 168 días posteriores a la siembra, respectivamente. Las plantas completas de las parcelas experimentales de cada variedad fueron cortadas y después trozadas en un molino (DPM Junior, Noriega), para obtener un tamaño de partículas de 1.5 a 4.0 cm. Posteriormente para formar los microsilos se usó 1 ml de cada producto por kg de ensilado, por lo que se pesaron por cuadruplicado 10 kg de material fresco de cada variedad, para aplicarle 10 ml de xilanasa (producto constituido por 34,000 a 41,000 unidades de xilanasa/g, de 12,000 a 15,000 unidades de β -glucanasa/g y entre 45,000 y 55,000 unidades de celulasa/g), 10 ml de celulasa (constituido por 30,000 a 36,000 unidades de celulasa/g y 7,500 a 10,000 unidades de β -glucanasa/g) o 10 ml de Aguamiel de maguey (con 8.62% de azúcares, 0.3% de aminoácidos, 3.0% de proteína y 3.0% de minerales) y dejar

sus correspondientes testigos; después fueron llenados tres cilindros de PVC de 15x30 cm, con cada una de las variedades de maíz y sus respectivos tratamientos, compactando el forraje de cada cilindro con una prensa metálica y finalmente sellarlos con plástico negro. Los microsilos fueron apilados dentro de un lugar fresco y cubierto durante seis meses a temperatura ambiente.

3.2.3. Composición química

En abril de 2014 fueron abiertos los microsilos, obteniendo muestras de forraje para el análisis químico (3 ensilajes por muestra). Fueron tomados 6 núcleos de cada bolsa y se agruparon para producir una muestra por bolsa. Las muestras se congelaron a -18°C antes del análisis de composición química.

Las muestras alimenticias agrupadas se molieron con un Molino Wiley hasta un tamaño máximo de 1 mm y se analizaron por duplicado, siguiendo el procedimiento de la AOAC (1997). El pH se midió inmediatamente después de abrir cada silo; la material seca (MS) se determinó mediante secado en horno a 105°C hasta peso constante (ref. 934.01), la MO y cenizas totales por mufla (ref. 942.05) y PC por el método Kjeldahl (ref. 976.05). El contenido de FDN y FDA se determinaron según Van Soest *et al.* (1991), utilizando un analizador de fibra Ankom 200 (Ankom Technol. Co. Macedonia, Nueva York, EE. UU.). FDN se ensayó sin α -amilasa. FDN y FDA se expresan sin cenizas residuales. El contenido de humedad de los ensilajes se determinó a través de destilación con tolueno (Haigh y Hopkins, 1977).

3.2.4. Producción de gas *in vitro*

Durante el día de inicio de la incubación, se utilizaron dos vacas Holstein (450 kg LW), fistulada de rumen y con una dieta alimenticia continua a base de alfalfa, concentrado comercial y agua a libre acceso, el líquido ruminal fue extraído a las 0800 h antes de ser alimentadas las vacas, y transportado en un termo al laboratorio donde fue filtrado usando triple capa de gasa, manteniéndolo a una temperatura de 39°C y gaseado con CO₂. Manteniendo en agitación las soluciones (Menke y Steingas, 1988) (buffer, macronutrientes, micronutrientes, resarzurina, reductora y agua destilada), a una temperatura de 39°C, se les agregó el 10% de líquido ruminal y se continuó mezclándolas. Se pesaron 950 mg de MS de cada uno de los tratamientos y depositados en 48 frascos ámbar de 120 ml (considerando los 16 tratamientos por triplicado), añadiéndoles 90 ml de la solución preparada, cerrándolos y una vez agitados fueron colocados dentro de un baño de agua con temperatura controlada a 39°C. Posteriormente se determinó la presión (PSI) mediante el uso de un transductor de presión DELTA OHM HD2124.1, y se realizó la medición de producción de gas a las 3, 6, 9, 12, 24, 36, 48, 72 y 96 horas de incubación, Para su corrección se utilizaron cuatro frascos sin sustrato como blancos; además, de cuatro frascos con heno de cebada como estándar (Theodorou *et al.*, 1994).

3.2.5. Calculos

Los parámetros cinéticos de PG se estimaron a través de un procedimiento interactivo de análisis de regresión no lineal (PROC NLIN, SAS Institute 2002) de acuerdo con Krishnamoorthy *et al.* (1991), calculado como:

$$GP = b (1 - e^{-c(t-l)}) \quad (1)$$

Donde PG es el volumen de PG en el tiempo t; b es la PG asintótica (ml/g MS); c es la velocidad de PG (g/h) y l (h) es el tiempo de retraso discreto antes de la producción de gas.

Al final de la incubación fueron determinados la degradabilidad de la MS (DMS, mg) y la degradabilidad de la MO (DMO, mg); el rendimiento de gas (GY₂₄) se calculó como el volumen de gas (mg gas/g MS) producido después de 24 h de incubación, dividido por la cantidad de DMS (g) como:

$$\text{La producción de gas (GY}_{24}) = \text{ml de gas. g MS}_{24\text{h}} / \text{g DMS} \quad (2)$$

La energía metabolizable (EM, Mj/ kg MS) se calculó de acuerdo a Fernández-Carmona *et al.* (2004) como: $EM = 15.3 - 0.19 \text{ FDA } (\%)$ (3)

La producción de gas relativa (PGR) se calculó como mililitros de gas por gramo de DMS después de 48 horas de incubación (DMS_{48h}):

$$RGP = \text{ml gas} / \text{g DMD}_{48\text{h}} \quad (4)$$

La concentración de ácidos grasos de cadena corta (AGCC) fueron calculados de acuerdo a GETACHEW *et al.* (2002) como:

$$\text{AGCC (mmol/200 mg MS)} = 0.0222 \text{ PG} - 0.00425 \quad (5)$$

Donde PG es la producción neta de gas a la 24 h (ml/200 mg DM).

La producción de biomasa microbial fue calculada de acuerdo a BLUMMEL *et al.* (1997)

$$\text{como: MCP (mg/g MS)} = \text{mg DMS} - (\text{ml gas} \times 2.2 \text{ mg/ml}) \quad (6)$$

Donde 2.2 mg/ml es un factor estequiométrico que expresa mg de C, H y O requeridos para la producción de AGCC asociado con la producción de 1 ml de gas.

3.2.6. Análisis estadístico

El experimento tuvo un diseño completamente aleatorizado con arreglo factorial 4 x 3 (Steel *et al.*, 1997), en donde los tratamientos fueron las variedades de maíz (V)(n=4) y los aditivos (control, xilanasa, celulasa y Aguamiel de maguey) (A)(n=4), con tres repeticiones. Los datos se analizaron con mediciones repetidas en el tiempo, usando procedimiento estadístico (SAS, 2002). El modelo estadístico fue:

$$Y_{ijk} = \mu + V_i + A_j + (V*A)_{ij} + E_{ijk} \quad (7)$$

Donde Y_{ijk} = variable respuesta de los ensilados tratados con la xilanasa, celulasa y Aguamiel de maguey; μ = media general; V_i = efecto de la i-esima variedad (i=1-4); A_j = efecto del j-esimo aditivo (j=1-4); $(V*A)_{ij}$ = efecto de la interacción entre la i-esima variedad y el j-esimo aditivo; E_{ijk} =error experimental de la i-esima variedad, j-esimo aditivo y k-esima repetición. Las medias se compararon mediante la prueba de Tukey a una probabilidad menor igual al 1%.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Texcoco, Estado de México, 20 de abril de 2015
Ref.: 830-15

DR. ANDRÉS GONZÁLEZ HUERTA
PROFESOR-INVESTIGADOR
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO
PRESENTE:

Por medio de la presente se hace constar que el manuscrito titulado: **“Caracterización fenotípica de híbridos y variedades de maíz forrajero en Valles Altos del Estado de México, México”** del cual son autores(as): **José Ramón Pascual Franco Martínez, Andrés González Huerta*, Delfina de Jesús Pérez López, Manuel González Ronquillo**, fue aceptado para ser publicado en el Vol. 6 Núm. 8 12 de noviembre-31 de diciembre de 2015 en la Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas.

Sin otro particular, le envío un cordial saludo.

Atentamente



DRA. DORA MA. SANGERMAN-JARQUÍN
EDITORA EN JEFA DE LA REVISTA
MEXICANA DE CIENCIAS AGRÍCOLAS

c.c.p. * Archivo
DMSJ/mdpg

Artículo 1:

**CARACTERIZACIÓN FENOTÍPICA DE HÍBRIDOS Y VARIEDADES DE MAÍZ
FORRAJERO EN VALLES ALTOS DEL ESTADO DE MÉXICO, MÉXICO**

**PHENOTIPIC CHARACTERIZATION OF FORAGE MAIZE HYBRIDS AND VARIETIES
AT MEXICO STATE HIGHLANDS, MEXICO**

José Ramón Pascual Franco Martínez¹, Andrés González Huerta^{2§}, Delfina de Jesús Pérez

López² y Manuel González Ronquillo³

¹ Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales, Facultad de Ciencias Agrícolas (FCAgri), Universidad Autónoma del Estado de México (UAEMéx), Campus Universitario “El Cerrillo”. El Cerrillo Piedras Blancas, Municipio de Toluca, Estado de México, México (CPB-TEM). Tel. 01(722) 2965574. ² Centro de Investigación y Estudios Avanzados en Fitomejoramiento, FCAgri, UAEMéx, CPB-TEM. Apartado Postal 435. Tel. y/o Fax: 01(722) 2965519. Ext. 148. ³ Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UAEMéx. CPB-TEM. Tel. 01(722) 3966032 (jrfrancom@uaemex.mx; djperezl@uaemex.mx; mrg@uaemex.mx). § Autor para correspondencia: agonzalezh@uaemex.mx.

RESUMEN

En México, la aplicación de la selección y hibridación han generado maíces de mayor producción de grano y los criollos se usan con doble propósito pero existe escasa información sobre su potencial para desarrollar materia verde y/o seca. Este estudio se hizo en 2013 para identificar cultivares forrajeros sobresalientes para el Valle Toluca-Atlacomulco, México. 29 cultivares fueron evaluados en campo bajo un diseño experimental de bloques completos al azar con tres repeticiones por sitio. El análisis de los datos a través de las cuatro localidades se hizo como una serie de experimentos en espacio. Los resultados más importantes mostraron que las mejores localidades para la evaluación del material

genético fueron Metepec y Tiacaque. Los cultivares Victoria, H-159 y SBA-470 constituyeron la fracción superior de los programas de hibridación obtenidos a partir de metodologías convencionales y los Amarillos Allende, San Cayetano y Portes Gil, Cacahuacintles Tlacotepec y San Cristóbal y Blancos Tlacotepec y San Diego representan la obra artística y cultural de los agricultores mexiquenses que, por medio de selección masal visual aplicada a las dimensiones de la mazorca y de la planta, han incrementado el potencial productivo de grano y/o forraje. Las mayores producciones en forraje verde y seco que se obtuvieron en el material genético más sobresaliente se explican por aumentos significativos en número de hojas por planta, floración masculina, altura de planta, y producciones de materia verde y seca de elote, tallos y hojas. Los cultivares más sobresalientes podrían emplearse para derivar líneas endogámicas y formar nuevas variedades y híbridos forrajeros o destinarse a un programa de aplicación, validación o generación de tecnología agropecuaria.

Palabras clave: *Zea mays*, maíces forrajeros sobresalientes, razas de Valles Altos del Centro de México, análisis multivariados.

ABSTRACT

In Mexico the application of the selection and hybridization technics was generated higher grain production and creoles were used with double purpose but there is a little information about its potential to develop green and dry matter. This study was conducted in 2013 to identify outstanding forage cultivars in the Toluca-Atlacomulco Valley, Mexico. 29 cultivars were evaluated in field conditions under an experimental design of randomized complete block with three replicates per site. The analysis of data through the four towns was done as a series of experiments in space. The most important results shown the best sites for genetic material evaluation were Metepec and Tiacaque. The Victoria, H-159 and SBA-470 cultivars were the top fraction of hybridization programs obtained from conventional methodologies and Allende, San Cayetano, and Portes Gil (Yellow maize), Tlacotepec and San Cristobal Cacahuacintles and San Diego and Tlacotepec (White maize) represent the artistic

and cultural work of mexiquense farmers who, by means of visual mass selection applied to the dimensions of the ear and plant, have increased the production potential in grain and forage maize. The most outstanding cultivars could be used to derive new inbred lines to obtain other forage varieties and hybrids or allocated them to an application, validation or generation technology programs.

Keywords: *Zea mays*, outstanding forage maize, races of Central Highland' Mexico, multivariate analysis.

INTRODUCCIÓN

En América Latina los maíces (*Zea mays* L.) de granos blancos y amarillos se usan principalmente en la elaboración de tortillas y en la alimentación animal. El maíz forrajero es la principal fuente en el centro de México (Antolín *et al.*, 2009), y su ensilado es el más utilizado en las principales cuencas lecheras por su alto valor energético y elevada producción de materia verde y/o seca (MV y/o MS), lo cual incrementa las ganancias por su explotación (Peña *et al.*, 2010). En México se siembran con maíz forrajero 137 432 ha en riego y 440 382 ha en temporal, con rendimientos de 33.6 a 47.7 y de 17.4 a 20.7 t ha⁻¹ de MV, respectivamente (SAGARPA, 2014); otros rendimientos en riego varían de 70 a 95 t ha⁻¹ de MV, y más de 20.0 t ha⁻¹ de MS (Núñez *et al.*, 1999; Peña *et al.*, 2008; Castillo *et al.*, 2009). Entre 1980 y 2010 el crecimiento en la producción de forraje, leche y carne de res fue de 61.2, 43.8 y 40 %, respectivamente, pero los dos últimos están por debajo del incremento de la población mexicana (45.6 %; Brambila-Paz *et al.*, 2014). La tasa media de crecimiento anual de maíz forrajero en 2012 y 2013 fue de 4.3 y 8.4, respectivamente. En el Estado de México se cosechan 26 187 ha y se obtienen 44.4 t ha⁻¹ de MV (SAGARPA, 2014).

Los maíces nativos ocupan de 70 a 80% de la superficie cultivada en México. En los Valles Altos de la Meseta Central, conformada por los estados de Hidalgo, México, Puebla y Tlaxcala, se siembran 3.5 millones de ha con las razas Arrocillo Amarillo, Palomero Toluqueño, Cacahuacintle, Cónico y

Chalqueño; las dos últimas se explotan ampliamente. Los agricultores mexicanos han incrementado la producción de MV o MS, así como el rendimiento de grano y otras variables agronómicas en sus criollos por medio de la selección masal visual y con la aplicación de paquetes tecnológicos que ellos han generado (Wellhausen *et al.*, 1951; González *et al.*, 2008; Rocandio-Rodriguez *et al.*, 2014). En el Estado de México se siembran 573 000 ha de maíz para grano; la principal zona productora es el Valle Toluca-Atlacomulco con casi 250 000 ha. Las razas que predominan son Cacahuacintle, Cónico y Chalqueño usadas para la producción de elote, grano y forraje; sus rendimientos en la segunda modalidad varían de 4.0 a 11.36 t ha⁻¹ (González *et al.*, 2006; González *et al.*, 2008; Reynoso *et al.*, 2014, Rodríguez *et al.*, 2015).

El mejoramiento genético que se ha realizado en la Meseta Central de México se ha enfocado principalmente a la obtención de cultivares de mayor producción de grano pero se han descuidado sus atributos de calidad y sus propiedades forrajeras. Los criollos se siembran con doble propósito y su rastrojo es un subproducto importante para la alimentación de varias especies en unidades de producción campesina bajo condiciones de secano, por lo que debería darse especial atención a la generación de nuevos materiales con características deseables para la producción de leche y carne (Muñoz-Tlahuiz *et al.*, 2013; Peña *et al.*, 2012). Así, el objetivo principal del presente estudio fue evaluar criollos e híbridos para identificar una fracción forrajera sobresaliente que permite su recomendación en siembra comercial, para mejoramiento genético y para aplicar, validar o generar tecnología agropecuaria.

MATERIALES Y MÉTODOS

En el ciclo agrícola primavera-verano de 2013 se establecieron cuatro experimentos en Metepec, El Cerrillo Piedras Blancas, Mina México y Tiacaque (Municipios de Metepec, Toluca, Almoloya de Juárez y Jocotitlán), localizadas en el Valle Toluca-Atlacomulco, Estado de México, México; éstas

presentan diferencias en ubicación geográfica, precipitación, clima, pH, materia orgánica y tipo de suelo (Cuadro 1).

Se utilizaron 10 híbridos y 19 variedades. Los primeros son explotados para la producción de grano o con doble propósito; cuatro son amarillos y seis blancos. La colecta de las variedades se hizo en Metepec, Santiago Tianguistenco, Zinacantepec, Toluca, Almoloya de Juárez, Ixtlahuaca, Jiquipilco, Temoaya y San Felipe del Progreso; según el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) 10 cultivares amarillos pertenecen a la raza Cónico, y de las otras nueve de grano blanco, cinco son Cónico, dos Cónico-Chalqueño y dos Cacahuacintle (Cuadro 2).

Cuadro 1. Características de las localidades.

Características	Meteppec	Mina México	El Cerrillo Piedras Blancas	Tiacaque
Latitud norte	19° 14' 54"	19° 20' 20"	19° 24' 40"	19° 42' 16"
Longitud oeste	99° 34' 32"	99° 41' 03"	99° 41' 58"	99° 42' 11"
Altitud (m)	2662	2630	2611	2569
Temperatura media (°C)	12.84	12.61	13.02	13.34
Precipitación (mm)	806.9	642.9	763	912.4
Clima	Templado sub húmedo	Templado semiseco	Templado semiseco	Templado sub húmedo
pH	5.61	5.52	6.29	6.18
Materia orgánica (%)	1.75 (medio-bajo)	1.79 (medio-bajo)	1.88 (medio)	2.74 (medio- alto)
Textura	Franco-arenoso (13arc-19Li- 68%are)	Franco-arcillo- arenoso (30arc- 26Li-44%are)	Franco-arcilloso (32arc-29Li- 39%are)	Arcilloso (47arc-26Li- 27%are)

Fuente: CONAGUA (2013).

Cuadro 2. Material genético evaluado.

Código	Híbrido	Procedencia	Tipo	Color del grano
1	S-4(30)	ICAMEX	Sintético	Amarillo
9	Insurgente	ICAMEX	Triple	Amarillo
3	P-1832	Pioneer	Triple	Amarillo
4	SBA-470	Berentsen	Triple	Amarillo
5	H-40	INIFAP	Triple	Blanco
6	H-159	INIFAP	Triple	Blanco
7	AS-722	ASPROS	Triple	Blanco
8	AS-820	ASPROS	Triple	Blanco
2	Victoria	ICAMEX	Simple	Blanco
11	P-804W	Pioneer	Triple	Blanco
	Variedad	Municipio de colecta	Raza*	
10	Zanahoria	Metepec	Cónico	Amarillo
12	San Diego	Almoloya de Juárez	Cónico	Amarillo
13	Allende	Temoaya	Cónico	Amarillo
14	San José	Temoaya	Cónico	Amarillo
15	San Cayetano	Toluca	Cónico	Amarillo

16	Tlacotepec	Toluca	Cónico	Amarillo
17	Lomas	Almoloya de Juárez	Cónico	Amarillo
18	San Cristóbal	Zinacantepec	Cónico	Amarillo
28	Fresno Nichi	San Felipe del Progreso	Cónico	Amarillo
29	Emilio Portes Gil	San Felipe del Progreso	Cónico	Amarillo
19	San Cayetano	Toluca	Cónico-Chalqueño	Blanco
20	Tlacotepec	Toluca	Cónico-Chalqueño	Blanco
21	San Mateo Otza.	Toluca	Cónico	Blanco
22	Ixtlahuaca	Ixtlahuaca	Cónico	Blanco
23	Jiquipilco	Jiquipilco	Cónico	Blanco
24	Xalatlaco	Santiago Tianguistenco	Cónico	Blanco
25	San Diego	Almoloya de Juárez	Cónico	Blanco
26	Tlacotepec	Toluca	Cacahuacintle	Blanco
27	San Cristóbal	Zinacantepec	Cacahuacintle	Blanco

*INIFAP Valle de México.

Los 29 cultivares se evaluaron en campo en un diseño experimental de bloques completos al azar con tres repeticiones por localidad. La parcela constó de tres surcos de 7.0 m de longitud y 0.80 m de ancho (16.8 m²); la hilera central fue la parcela útil (5.6 m²). La siembra manual se realizó el 11, 18, 23 y 30 de abril en El Cerrillo Piedras Blancas, Mina México, Metepec y Tiacaque, respectivamente; se aplicó un riego 4-5 días después de la siembra, excepto en la tercera localidad. En cada hilera fueron

depositadas tres semillas por mata cada 30 cm, dejando dos plantas cuando el cultivo tenía 20 cm (83 333 plantas ha⁻¹). La preparación del suelo consistió en barbecho, cruza y rastra. Se fertilizó con 150N-90P-50K: se aplicó la tercera parte del nitrógeno, todo el fósforo y el potasio al surcar y el resto en la segunda escarda. El control de maleza se hizo con cultivadora y 1.5 L ha⁻¹ de atrazina + s-metolaclor en post-emergencia temprana al cultivo, mezclado en 200 L de agua. El frailecillo (*Macrodactillus spp.*) fue controlado con 1.5 L ha⁻¹ de malatión. El material genético se cosechó cuando el grano estaba masoso.

Se registró floración masculina (FM, días transcurridos desde la siembra hasta que el 50 % de las plantas derramaron polen), altura de planta (AP, medida desde la superficie del suelo hasta la lígula de inserción de la hoja bandera), número de hojas (NH), diámetro de tallo (DT, se midió en cm dos entrenudos abajo del elote), acame (Ac, porcentaje de plantas con inclinación mayor a 45°). AP, NH, DT y AC se determinaron con ocho datos. Las plantas con elote en una línea de 3.0 m se emplearon para determinar las materias verde total (MVT, t ha⁻¹) y de elote con brácteas (MVE, t ha⁻¹); el peso fresco de tallos y hojas también se calculó (MVTH, t ha⁻¹); de la MVE y la MVTH se tomó el 10 % para secarla en una estufa a 60 °C y con humedad constante se obtuvo su materia seca (MSE y MSTH, t ha⁻¹). Con MSE y MSTH se determinó materia seca total (MST, t ha⁻¹).

Se generó un análisis de varianza combinado (Anacom). Las medias de localidades y de cultivares se compararon con la prueba de Tukey (P<0.01) y las salidas se obtuvieron con el Sistema para Análisis Estadístico (SAS Institute Inc., versión 9.0). También se aplicaron los análisis de componentes principales y de conglomerados en la forma como lo sugirieron Sánchez (1995) y González *et al.* (2010). Los cuadrados medios del Anacom fueron utilizados para estimar la variabilidad genética en los 29 cultivares. El biplot fue elaborado con Microsoft Excel Ver. 1997-2003 con las puntuaciones de los CP1 y CP2 generadas por SAS (1999).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el Valle Toluca-Atlacomulco, México las localidades son muy heterogéneas, existe amplia diversidad entre maíces y es común la inestabilidad fenotípica. La elección de localidades adecuadas en presencia de interacción genotipo x ambiente (IGA), es indispensable para ahorrar tiempo y recursos. La amplia variabilidad genética que hubo en los 29 cultivares (Cuadros 3 y 5) se atribuye a las diferencias que existen entre los criollos de las razas Cónico, Chalqueño y Cacahuacintle con los híbridos de INIFAP, ICAMEX, CIMMYT o empresas privadas (Cuadro 2). La IGA significativa que se detectó en todas las variables indica que la mayoría de los cultivares tuvieron adaptación específica siendo necesario conducir más ensayos en tiempo y/o espacio para estimar confiablemente los parámetros genético-estadísticos que permitan identificar una fracción superior. Los resultados anteriores son similares a los publicados por Rodríguez *et al.* (2002), González *et al.* (2006), González *et al.* (2008), Reynoso *et al.* (2014) y Rodríguez *et al.* (2015).

Cuadro 3. Cuadrados medios y significancia estadística de los valores de F para producción de forraje y variables relacionadas.

Fuente de variación	Grados libertad	Floración masculina	Altura de planta	Número de hojas	Diámetro de tallo	Acame
Localidades (L)	3	3115.08**	0.89**	1.40*	0.28**	10158.86**
Repeticiones/L	8	1.50	0.02	0.36	0.05	133.11
Cultivares (G)	28	1134.52**	0.75**	14.80**	0.25**	3960.19**
L x G	84	4.85**	0.03**	0.64**	0.04*	756.10**
Error	224	0.57	0.01	0.42	0.02	138.80
Media		102.78	2.51	12.06	1.90	24.16
CV (%)		0.73	5.06	5.41	9.04	48.75
H ² (%)		99.57	96.03	95.70	84.13	80.90

Continuación del Cuadro 3.

Fuente de variación	Grados libertad	MVTH	MVE	MVT	MSTH	MSE	MST
Localidad (L)	3	290.67**	223.88**	545.21**	23.96**	16.65**	31.78**
Repeticiones	8	61.58	14.02	134.31	2.12	0.87	4.67
Cultivares (G)	28	1864.69**	208.00**	2503.80**	57.00**	10.02**	86.95**
L x G	84	106.91**	41.09**	212.24**	3.29**	2.54**	7.11**
Error	224	47.67	10.67	83.88	1.90	0.71	3.77
Media		62.48	26.49	88.98	11.56	6.81	18.38
CV (%)		11.05	12.32	10.29	11.92	12.42	10.55
H ² (%)		94.27	80.24	91.52	94.25	74.64	91.82

En Metepec se favorecieron significativamente floración masculina (FM) y las materias verde y seca de elote, tallos y hojas, así como total (MVE, MVTH, MVT, MSE, MSTH y MST). En El Cerrillo Piedras Blancas se registraron los mayores promedios en diámetro del tallo (DT) y En MVTH y MSTH. En Mina México se observaron los mayores porcentajes de acame y en Tiacaque las plantas tuvieron mayores dimensiones, fueron más precoces y rindieron bien en MSE y MST. Las mejores localidades para la producción de MVT y MST fueron Metepec y Tiacaque. González *et al.* (2006), González *et al.* (2008), Reynoso *et al.* (2014) y Rodríguez *et al.* (2015) comentaron que la heterogeneidad que existe entre localidades en el centro del estado de México se debe principalmente a sus diferencias en suelo, altitud, clima y precipitación pluvial (Cuadro 1).

Cuadro 4. Comparación de medias para producción de forraje de maíz y variables relacionadas evaluadas en cuatro localidades del Valle Toluca-Atlacomulco, Estado de México.

Localidades	Floración masculina	Altura de planta (m)	Número de hojas	Diámetro de tallo (cm)	Acame (%)
Metepec	108.97a	2.40c	12.01a	1.87b	28.62a
Cerrillo Piedras Blancas	104.66b	2.49b	12.08a	1.97a	7.98b
Mina México	102.80c	2.49b	11.91a	1.84b	30.08a
Tiacaque	94.68d	2.64a	12.22a	1.91ab	29.97a

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes (Tukey, $p=0.01$).

Continuación del Cuadro 4.

Localidades	MVTH	MVE	MVT	MSTH	MSE	MST
	(t ha⁻¹)	(t ha⁻¹)	(t ha⁻¹)	(t ha⁻¹)	(t ha⁻¹)	(t ha⁻¹)
Metepec	63.60a	28.59a	92.18a	11.87a	7.28a	19.06a
Cerrillo Piedras Blancas	64.17a	24.72c	88.88ab	12.08a	6.23c	18.31ab
Mina México	60.08b	26.05bc	86.07b	10.89b	6.71b	17.61b
Tiacaque	62.08ab	26.61b	88.79ab	11.43ab	7.12a	18.56a

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes (Tukey, $P=0.01$).

Los resultados que se muestran en las figuras 1 y 2 son consistentes con los recomendables por Sánchez (1995) y por Reynoso *et al.* (2014); cuando los valores de los dos primeros componentes principales son mayores al 70 % la formación de grupos de variables o de cultivares podría ser muy similar cuando se aplica esta técnica multivariada junto con la de conglomerados (Rodríguez *et al.*, 2015).

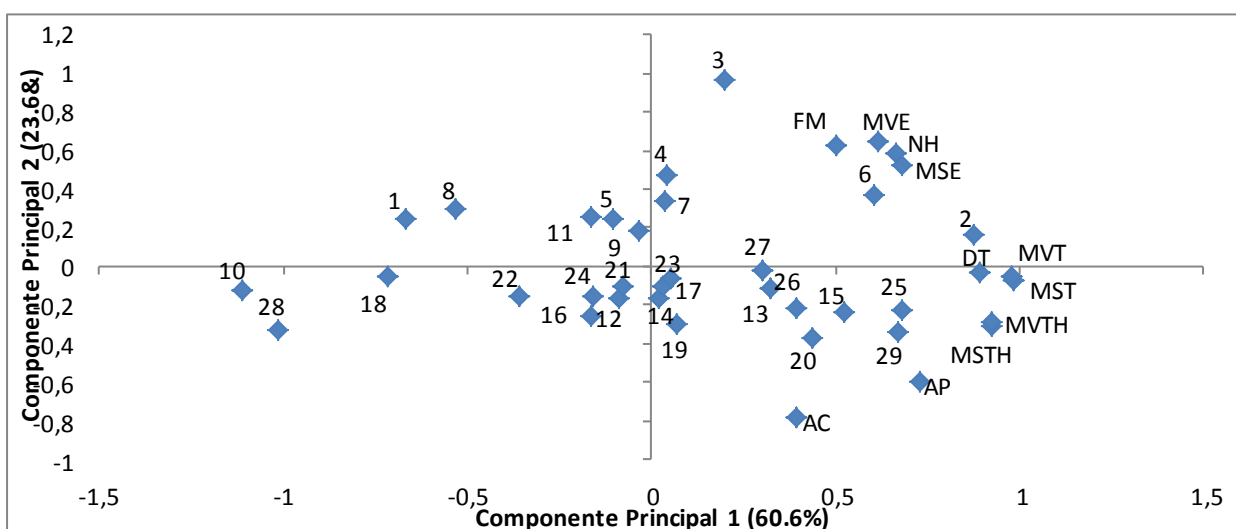


Figura 1. Interrelación entre 29 cultivares de maíz y 11 variables agronómicas.

En el Grupo 1 (G1) se identificó S-4(30), AS-820, Amarillo San Cristobal, SBA-470, AS-722, P-804W e Insurgente (Códigos 1, 8, 18, 4, 7, 5, 11 y 9). A excepción del tercero, que pertenece a la raza Cónico (Cuadro 2), se infiere que el resto podría tener germoplasma racial complejo del CIMMYT. Los progenitores de H-40 e Insurgente son (CML246 x CML242) x M39 y (CML450x CML461) x CML462 y en otros estudios se observó que H-40 se agrupó con AS-820 y AS-722 (González *et al.*, 2008; Rodríguez *et al.*, 2015), de ahí la hipótesis previamente establecida. Los cultivares más sobresalientes fueron SBA-470 y AS-722 con 19.01 y 18.52 t ha⁻¹ de materia seca total y 86.96 y 88.28 t ha⁻¹ de materia verde total (Cuadro 5). González *et al.* (2007), González *et al.*, (2008), González *et al.* (2010) y Rodríguez *et al.* (2015) han destacado el alto potencial que tiene AS-722 para producir grano en la región centro del estado de México, México. El empleo de los materiales de este grupo en

un programa de mejora vegetal podría contribuir a la derivación de materiales de doble propósito de ciclo biológico y alturas de planta intermedias, resistentes al acame y con aceptables producciones en biomasa y materia seca.

En el grupo 2 (G2) se detectó Amarillos San Diego, Lomas, San José, Tlacotepec y Blancos Jiquipilco, San Cayetano, San Mateo, Xalatlaco y Ixtlahuaca (Códigos 12, 14, 16, 17, 19, 21, 22, 23 y 24); de éstos los más sobresalientes en producción de materia verde o seca total fueron Blancos San Cayetano (87.79 y 18.94 t ha⁻¹) y Jiquipilco (90.94 y 18.43 t ha⁻¹) y Amarillo Lomas (93.43 y 18.68 t ha⁻¹). Según el INIFAP los nueve cultivares pertenecen a las razas Cónico o Cónico-Chalqueño (Cuadro 2). Estos resultados son consistentes con los observados en otros estudios donde el cultivar Ixtlahuaca fue clasificado como Cónico (González *et al.*, 2007; González *et al.*, 2008; González *et al.*, 2011). Con relación a G1, éstos fueron más altos y más susceptibles al acame pero produjeron más MVTH, MVT, MSTH y MST (Cuadro 5). Su colecta se hizo en Almoloya de Juárez, Ixtlahuaca, Jiquipilco, Temoaya, Toluca y Santiago Tianguistenco (Cuadro 2), municipios mexiquenses donde Wellhausen *et al.* (1951) concluyó que la diversidad de los maíces criollos pertenecientes a esta región corresponde a las razas Cónico y Chalqueño. El cruzamiento de líneas endogámicas de G1 y G2 podría ayudar a la formación de variedades e híbridos de alta producción de grano y forraje. Otra opción importante para esta región sería formar mestizos (cruza línea x variedad) para intentar incrementar heterosis y adaptabilidad.

En el grupo 3 (G3) fueron identificados los Amarillos Zanahoria y Fresno Nichi (códigos 10 y 28), muy precoces, susceptibles al acame y con las menores dimensiones en planta, hojas por planta, diámetro de tallo y materia verde y seca (Cuadro 5). Ambos pertenecen a la raza Cónico y provienen de los municipios de Metepec y San Felipe del Progreso (Cuadro 2), región donde Wellhausen *et al.* (1951) también clasificaron criollos de la raza Cónico. González *et al.* (2011) observaron que el cultivar Ixtlahuaca, un Cónico usado como testigo, estuvo muy cercano o se agrupó con 20 criollos

colectados en El Fresno Nichi, por lo que sugirió que éstos últimos también podrían pertenecer a esta raza. Ambos cultivares podrían emplearse en cruzas intervarietales con criollos de esta u otras razas para formar variedades más precoces.

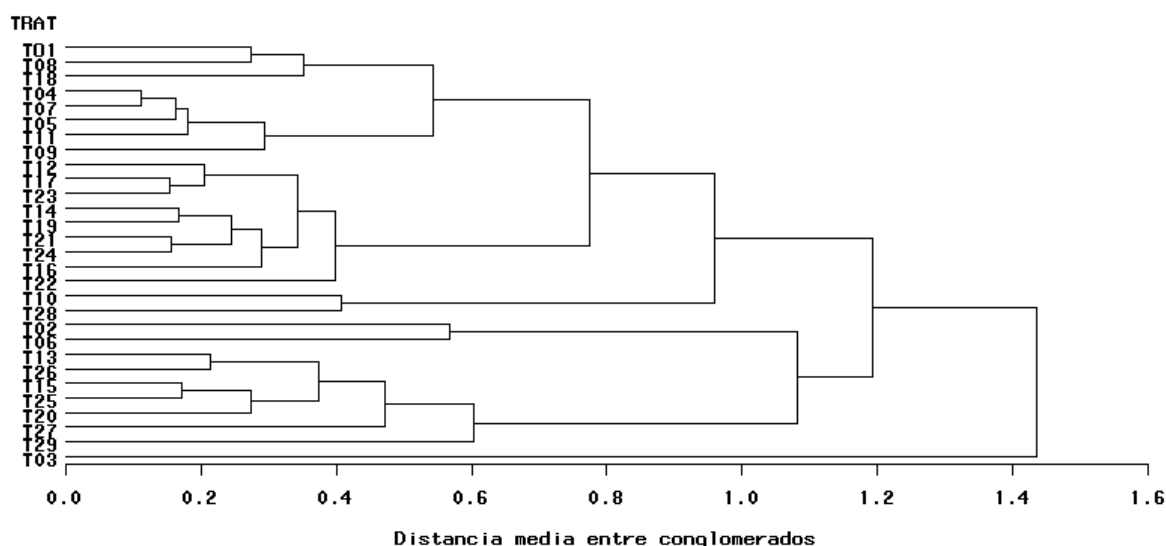


Figura 2. Agrupamiento de 29 maíces considerando 11 variables agronómicas. Método de media aritmética no ponderada.

El grupo 4 (G4) se formó con Victoria y H-159 (Códigos 2 y 6), dos de los cultivares más sobresalientes. Ambos fueron más tardíos (FM), tuvieron más hojas por planta (NH), mayor diámetro de tallo (DT), y produjeron más biomasa (MVTH, MVE, MVT) y materia seca (MSTH, MSE, MST) que los materiales de G1, G2 y G3. Kennington *et al.* (2005) sugirieron que la eficiencia en la producción y calidad de forraje en maíz dependen principalmente del cultivar. Ambos cultivares tuvieron un DT inferior al registrado por Bosch *et al.* (1992) en los materiales más sobresalientes, que fue de 2.33 cm. H-159 produjo más materia seca de elote pero fue superado por Victoria en FM, NH, DT, MVTH, MVE, MVT, MSTH, MSE, MST (Cuadro 5). Victoria fue formado por el ICAMEX con líneas S₄ de V-18 (raza Cónico). Los progenitores de H-159, (M49xM50) x LTVA, fueron derivados

por el INIFAP de germoplasma complejo de El Bajío y de la raza Chalqueño. Las razas Cónico y Chalqueño son predominantes en los Valles Altos del Centro de México en más del 85 % de la superficie sembrada con maíz en los estados de Hidalgo, México, Puebla y Tlaxcala (Wellhausen *et al.*, 1951). Ambos cultivares podrían emplearse con algunas restricciones en la derivación de nuevas líneas endogámicas con propósitos de mejora vegetal o generación de tecnología agropecuaria.

En el grupo 5 (G5) se identificó Amarillos Allende, San Cayetano, y Portes Gil, Cacahuacintles Tlacotepec y San Cristóbal, y Blancos San Diego y Tlacotepec (códigos 13, 15, 29, 26, 27, 25, y 20); éstos fueron más precoces, de mayor porte de planta, más susceptibles al acame y con dimensiones en materia verde y seca estadísticamente iguales a la de los cultivares de G4. Muñoz-Tlahuiz *et al.* (2003) identificaron criollos con alturas de planta contrastantes en el rango de 177 a 247 cm. Las mayores alturas de planta son un prerrequisito para obtener mayor producción de materia verde y/o seca. Subedi y Ma (2005) mencionaron que el número total de hojas y, específicamente las situadas por arriba e inmediatamente debajo de la mazorca, son las más importantes para incrementar rendimiento de grano y/o biomasa. Los cultivares identificados como 15, 20, 25 y 29 rindieron de 21.56 a 22.10 t ha⁻¹ de MST o de 101.81 a 113.29 t ha⁻¹ de MVT (Cuadro 5). Wong *et al.* (2006) y Lauer *et al.* (2001) concluyeron que los pesos frescos y secos de elote con brácteas (MVE ó MSE) y de tallos (MVT ó MST) son los dos componentes principales de la materia verde y seca total. En este contexto el mejoramiento genético para la formación de nuevos cultivares forrajeros debe enfocarse a la obtención de materiales con más MVE, MSE, MVT, y MST, como un prerrequisito para aumentar la producción de materia seca total. Los siete cultivares pertenecen a las razas Cónico, Cónico-Chalqueño o Cacahuacintle y fueron colectados en Temoaya, Toluca, Almoloya de Juárez, Zinacantepec y San Felipe del Progreso (Cuadro 2). La clasificación racial que hizo el INIFAP para los materiales en este grupo son congruentes con los publicados por Wellhausen *et al.* (1951) y por González *et al.* (2008).

P-1832 (Grupo 6, código 3) tuvo el mayor ciclo vegetativo, más hojas por planta y cero acame. Estas ventajas contribuyeron a una mayor producción de materia verde de elote, la cual fue superior a las de los cultivares de G1, G2 y G3 pero inferior a la de G4 y G5. Su altura de planta fue tan baja como la de los materiales agrupados en G3 (Cuadro5). Se infiere que sus progenitores son diferentes de los que dan origen al resto de los cultivares debido a sus tres primeras características contrastantes. En los Valles Altos del Centro de México son comunes las heladas tardías y tempranas, por lo que P-1832 tendrá desventajas si se siembra en fechas posteriores al 15 de abril o en localidades situadas por arriba de los 2600 msnm (González *et al.*, 2007; González *et al.*, 2008; González *et al.*, 2011). La cruce intervarietal entre P-1832 con Amarillos Zanahoria o Fresno Nichi podría ser promisorio al generar materiales más precoces, de alturas intermedias, con mayor número de hojas por planta, mayor diámetro de tallo y resistentes al acame y con producciones de MVT o MST quizás idénticas a las de los grupos 4 y 5.

La superioridad que mostraron los cultivares que integraron los grupos 4, 5 y 6 se atribuye a la correlación positiva y significativa que existió entre sus producciones de materia verde y/o seca con el resto de las variables evaluadas, excepto con acame de tallo y raíz (Figura 1). Las producciones de materia verde total en todos los cultivares y, especialmente en los más sobresalientes, fue igual o mayor a la media del estado de México, que es de 44.4 t ha⁻¹ (SAGARPA, 2014) y fueron similares o mayores a los registrados por Nuñez *et al.* (1999), Peña *et al.* (2008), Castillo *et al.* (2009), con rendimientos que varían entre 70 y 95 t ha⁻¹ de materia verde y más de 20.0 t ha⁻¹ de materia seca.

Los materiales más resistentes al acame de tallo y raíz fueron SBA-470, P-804W, AS-722 y P-1832, con menos del 3.0 %. Esta fracción podría usarse para mejorar el pobre sistema radicular que caracteriza a las razas de Valles Altos del Centro de México, como Cacahuacintle, Cónico, Chalqueño, Palomero Toluqueño y Arrocillo Amarillo (González *et al.*, 2008; Reynoso *et al.*, 2014; Rodríguez *et al.*, 2015).

Cuadro 5. Comparación de medias entre 29 genotipos de maíz.

Genotipo	FM	AP	NH	DT	AC	MVTH	MVE	MVT	MSTH	MSE	MST
	(días)	(m)		(cm)	(%)	(t ha ⁻¹)	(t ha ⁻¹)	(t ha ⁻¹)	(t ha ⁻¹)	(t ha ⁻¹)	(t ha ⁻¹)
S-4 (30) (a)	101.91hi	2.15jk	11.91cg	1.71f-h	5.20i-k	41.15k	24.39f-j	65.54j-l	8.47g-j	6.36d-h	14.83ij
AS-820 (b)	99.16l-n	2.18jk	11.41f-i	1.77d-h	3.33i-k	45.15jk	28.96b-f	74.11h-k	8.24h-j	6.85b-g	15.10h-j
San Cristóbal (a)	93.25p	2.20j	10.60h-j	1.66gh	11.45h-k	49.67i-k	22.38h-j	72.06i-l	8.97f-j	5.84f-i	14.81ij
SBA-470 (a)	104.58f	2.26ij	13.07b	1.97b-f	1.66k	55.91f-j	31.14a-d	86.96d-i	11.04d-f	7.97a-c	19.01b-g
AS-722 (b)	101.08i-k	2.31h-j	12.49b-f	1.85b-h	2.50jk	57.90e-i	30.38a-e	88.28d-h	10.72e-g	7.79a-d	18.52d-g
H-40 (b)	102.83gh	2.25j	12.66bc	1.92b-h	3.75i-k	60.11c-i	26.33d-i	85.61e-i	10.87d-f	7.01b-g	17.89f-i
P-804W (b)	100.33j-l	2.32h-j	12.02b-g	1.93b-h	0.00k	54.82g-i	28.14c-g	82.97f-i	10.31e-i	7.24a-f	17.56f-i
Insurgente (a)	103.83fg	2.53e-h	12.69bc	2.05a-d	11.45h-k	54.22h-j	27.25c-i	81.47f-i	10.37e-i	7.11b-g	17.48f-i
Promedio	100.87	2.27	12.10	1.85	4.91	52.36	27.37	79.62	9.87	7.02	16.90
San Diego (a)	98.91mn	2.72a-f	11.96b-g	1.87b-h	20.00f-k	63.87c-h	23.68f-j	87.55d-i	11.36de	6.13e-h	17.49f-i
Lomas (a)	100.33j-l	2.61c-g	11.74c-g	1.86b-h	22.29e-j	67.04b-f	25.68d-i	93.55b-g	12.02c-e	6.65b-g	18.68d-g
Jiquipilco (b)	101.25ij	2.64b-g	11.82c-g	1.91b-h	27.08d-h	64.45c-h	26.49d-i	90.94c-g	11.39de	7.04b-g	18.43d-h
San José (a)	99.91k-m	2.61c-g	11.66c-h	1.93b-h	32.91b-g	66.33b-g	25.15e-i	91.48b-g	11.53de	6.60c-g	18.14f-i
San Cayetano (b)	103.41fg	2.80a-d	12.35b-g	1.90b-h	35.20b-f	66.22b-g	22.06i-k	87.79d-i	13.18a-d	5.76g-i	18.94c-g
San Mateo (b)	99.25l-n	2.65b-g	11.49e-i	1.84b-h	27.29d-h	59.05d-i	26.27d-i	85.32e-i	11.45de	6.78b-g	18.32e-h
Xalatlaco (b)	101.25ij	2.58d-g	11.44f-i	1.75e-h	32.50bg	61.34c-i	24.54f-j	85.88e-i	11.28d-f	6.48d-h	17.76f-i
Tlacotepec (a)	96.91o	2.51f-h	11.51f-h	1.81c-h	41.25a-e	62.44c-h	23.66f-j	86.10d-i	11.50de	6.11e-h	17.61f-i
Ixtlahuaca (b)	96.75o	2.48g-i	11.24g-i	1.78d-h	22.91e-j	57.01f-j	22.59g-j	79.60g-j	10.46e-i	6.07e-h	16.54g-i
Promedio	99.77	2.62	11.69	1.85	29.04	63.08	24.45	87.57	11.57	6.40	17.99
Zanahoria (a)	90.66q	1.97k	9.66j	1.64h	14.16g-k	40.60k	18.88jk	59.40kl	7.59j	5.13hi	12.72j
Fresno Nichi (a)	92.66p	2.26j	10.41ij	1.71f-h	30.20c-h	40.99k	16.52k	57.52l	8.10ij	4.41i	12.51j
Promedio	91.66	2.11	10.03	1.67	22.18	40.79	17.70	58.46	7.84	4.77	12.61

Victoria (b)	116.91b	2.69b-g	14.74a	2.28a	16.25f-k	86.25a	27.84c-h	114.10a	14.92a	7.39a-e	22.31ab
H-159 (b)	110.00d	2.48g-i	12.58b-e	2.04a-e	3.33i-k	71.66bc	34.49ab	106.99ab	14.30a-c	8.62a	22.92a
Promedio	113.45	2.58	13.66	2.16	9.79	78.95	31.16	110.54	14.61	8.00	22.61
Allende (a)	103.66fg	2.77a-d	12.41b-f	1.99a-f	56.04a	70.05b-d	27.20c-i	97.26b-f	13.13a-d	7.39a-e	20.52a-f
Cac. Tlacotepec (b)	99.00mn	2.65b-g	11.41f-i	1.96b-g	56.87a	69.61b-e	32.26a-c	101.87a-d	11.40de	8.08ab	19.48b-g
San Cayetano (a)	101.66hi	2.74a-e	12.09b-g	2.03a-e	47.70a-c	77.29ab	27.69c-i	104.98a-c	14.39a-c	7.34a-e	21.74a-d
San Diego (b)	106.08e	2.92 ^a	12.63b-d	2.08a-c	52.29ab	78.11ab	29.00b-f	107.05ab	14.63ab	7.46a-e	22.10a-c
Tlacotepec (b)	98.25n	2.81a-c	12.60b-e	1.99a-f	43.33a-d	77.28ab	24.52f-j	101.81a-d	15.28a	6.28e-h	21.56a-e
Cac. San Cristóbal (b)	99.91k-m	2.59c-g	11.69c-h	1.93b-h	35.62b-f	68.99b-e	31.29a-d	100.28a-e	12.52b-e	7.82a-d	20.34a-f
Emilio Portes Hill (a)	112.08c	2.84a-b	12.10b-g	2.12ab	44.16a-d	88.40a	24.88e-i	113.29a	15.42a	6.36d-h	21.78a-d
Promedio	102.94	2.76	12.13	2.01	48.00	75.67	28.12	103.79	13.82	7.24	21.07
P-1832 (a)	144.83a	2.16jkl	15.33a	1.79c-h	0.00k	56.03f-j	34.66a	90.69c-g	10.54e-h	7.47a-e	18.02f-i
Tukey (0.01)	1.31	0.22	1.13	0.29	20.39	11.95	5.65	15.85	2.38	1.46	3.36

Las variables fueron definidas en el Cuadro 3. Medias con la misma letra no son significativamente diferentes (Tukey, P=0.01).

CONCLUSIONES

Metepec y Tiacaque fueron las mejores localidades para la evaluación del material genético. Los cultivares Victoria, H-159 y SBA-470 representaron la fracción superior de los programas de hibridación obtenidos por metodologías convencionales y Amarillos Allende, San Cayetano y Portes Gil, Cacahuacintles Tlacotepec y San Cristóbal y Blancos Tlacotepec y San Diego son la obra artística y cultural de los agricultores mexiquenses que, por medio de selección masal visual aplicada a las dimensiones de la mazorca y de la planta, han logrado incrementar su potencial productivo en el Valle Toluca-Atlacomulco, México. Los incrementos en la producción de materia verde y/o seca total en este material genético sobresaliente se explican por aumentos significativos en número de hojas

por planta, floración masculina, altura de planta, y producciones de materia verde y seca de elote, tallos y hojas.

LITERATURA CITADA

- Antolín, D. M.; González, R. M.; Goñi, C. S.; Domínguez, V. A., y Ariciaga, G. C. 2009. Rendimiento y producción de gas *in vitro* de maíces híbridos conservados por ensilaje o henificado. *Técnica Pecuaria en México* 47(4):413-423.
- Bosch, L.; Muñoz, F.; Casañas, E., y Nuez, F. 1992. Valoración forrajera de 24 híbridos comerciales de maíz de ciclo largo: parámetros de producción de biomasa y de calidad nutritiva. *Investigación Agrícola en Protección Vegetal* 7(2):130-142.
- Brambila-Paz, J. J.; Martínez-Damián, M. A.; Rojas-Rojas, M. M., y Pérez-Cerecedo, V. 2014. El valor de la producción agrícola y pecuaria en México: fuentes de crecimiento 1980-2010. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 5(4):619-631.
- Castillo, J. M.; Rojas, B. A., y Wing Ch, J. R. 2009. Valor nutricional del ensilaje de maíz cultivado en asocio con vigna (*Vigna radiata*). *Agronomía Costarricense* 33:133-146.
- Comisión Nacional del Agua (CONAGUA). 2013. Coordinación General del Servicio Meteorológico Nacional. Área Técnica. Departamento de Aguas Superficiales e Ingeniería de Ríos.
- González, H. A.; Sahagún, C. J.; Pérez, L. D. J.; Domínguez, L. A.; Serrato, C. R.; Landeros, F. V., y Dorantes, C. E. 2006. Diversidad fenotípica del maíz Cacahuacintle en el Valle de Toluca, México. *Revista Fitotecnia Mexicana* 29(3):255-261.
- González, H. A.; Vázquez, G. L. M.; Sahagún, C. J.; Rodríguez, P. J. E., y Pérez, L. D. J. 2007. Rendimiento del maíz de temporal y su relación con la pudrición de mazorca. *Agricultura Técnica en México* 33(1):33-42.

- González, H. A.; Vázquez, G. L. M.; Sahagún, C. J., y Rodríguez, P. J. E. 2008. Diversidad fenotípica de variedades e híbridos de maíz en el Valle Toluca-Atlacomulco, México. *Revista Fitotecnia Mexicana* 31(1):67-76.
- González, A.; Pérez, D. J.; Sahagún, J.; Franco, O.; Morales, E.; Rubí, M.; Gutiérrez, F., y Balbuena, A. 2010. Aplicación y comparación de métodos univariados para evaluar la estabilidad en maíces del Valle-Toluca-Atlacomulco, México. *Agronomía Costarricense* 34(2):129-143.
- González, H. A.; Pérez, L. D. J.; Franco, M. O.; Nava, B. E. G.; Gutiérrez, R. F.; Rubí, A. M., y Castañeda, V. A. 2011. Análisis multivariado aplicado al estudio de las interrelaciones entre cultivares de maíz y variables agronómicas. *Revista Ciencias Agrícolas Informa* 20(2):58-65.
- Kennington, L. R.; Hunt, C.W.; Szasz, J.I.; Grove, V., and Kezar, W. 2005. Effect of cutting height and genetics on composition, intake and digestibility of corn silage by heifers. *Journal of Animal Science* 83:1145-1454.
- Lauer, J. G.; Coors, J. G., and Flannery, P.J. 2001. Forage yield and quality of corn cultivars developed in different eras. *Crop Science* 41:1449-1455.
- Muñoz-Tlahuiz, F.; Guerrero-Rodríguez, J. D.; López, P. A.; Gil-Muñoz, A.; López-Sánchez, H.; Ortiz-Torres, E.; Hernández-Guzmán, A.; Taboada-Gaytán, O.; Vargas-López, S., y Valadez-Ramírez, M. 2013. Producción de rastrojo y grano de variedades locales de maíz en condiciones de temporal en los Valles Altos de Libres-Serdán, Puebla, México. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias* 4(4): 515-530.
- Núñez, H. G.; Contreras, F.; Faz, R., y Herrera, R. 1999. Selección de híbridos para obtener mayor rendimiento y alto valor energético en maíz para ensilaje. *In: Componentes tecnológicos para la producción de ensilados de maíz y sorgo. SAGAR-INIFAP-CIRNOC-CELALA. Folleto Técnico No. 4. pp:2-5.*

- Peña, R. A.; González, C. F.; Núñez, H. G.; Preciado, O. R.; Terrón, I. A., y Luna, F. M. 2008. H-376. Híbrido de maíz para producción de forraje y grano en el Bajío y la región norte centro de México. *Revista Fitotecnia Mexicana* 31:85-87.
- Peña, R. A.; González, C. F. y Robles, E. F. J. 2010. Manejo agronómico para incrementar el rendimiento de grano y forraje en híbridos tardíos de maíz. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 1(1):27-35.
- Peña, R. A.; González, C. F.; Núñez, H. G.; Tovar, G. M. R.; Vidal, M. V. A., y Ramírez, D. J. L. 2012. Heterosis y aptitud combinatoria para producción y calidad de forraje en seis poblaciones de maíz. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias* 3(3):389-406.
- Reynoso, Q. C. A.; González, H. A.; Pérez, L. D. J.; Franco, M.O.; Torres, F. J. L.; Velázquez, C. G. A.; Breton, L. C.; Balbuena, M. A., y Mercado, V. O. 2014. Análisis de 17 híbridos de maíz sembrados en 17 ambientes de los Valles Altos del centro de México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 5(5):871-882.
- Rocandio-Rodríguez, M.; Santacruz-Varela, A.; Córdova-Téllez, L.; López-Sánchez, H.; Castillo-González, F.; Lobato-Ortiz, R.; García-Zavala, J., y Ortega-Paczka, R. 2014. Caracterización morfológica y agronómica de siete razas de maíz de los Valles Altos de México. *Revista Fitotecnia Mexicana* 37(4):351-361.
- Rodríguez, F. I.; González, H. A.; Pérez, L. D. J., y Rubí, A. M. 2015. Efecto de cinco densidades de población en ocho cultivares de maíz sembrados en tres localidades del Valle de Toluca, México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 6(8). En prensa.
- Rodríguez, P. J.E.; Sahagún, C. J.; Villaseñor, M., H.E.; Molina, G.J.S., y Martínez, G. A. 2002. Estabilidad de siete variedades comerciales de trigo (*Triticum aestivum* L.) de temporal. *Revista Fitotecnia Mexicana* 25(2):143-151.

Sánchez, G. J. J. 1995. El análisis biplot en clasificación. *Revista Fitotecnia Mexicana* 18(2):188-203.

Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). 2014.

Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP)-Anuario Estadístico. URL:

<http://www.siap.gob.mx>.

Statistical Analysis System (SAS Institute). 1999. User's guide: Version 9. Cary, NC. USA.

Subedi, K.D., and Ma. B. L. 2005. Ear position, leaf area and contribution of individual leaves to grain yield in conventional and leafy maize hybrids. *Crop Science* 45:2246-2257.

Wellhausen, E. J.; Roberts, L. M. y Hernández, X. E. 1951. Razas de maíz en México, su origen, características y distribución. Oficina de Estudios Especiales. Secretaría de Agricultura y Ganadería. Folleto Técnico Núm. 5. México, D. F. 237 p.

Wong, R.R.; Gutiérrez, R.E.; Rodríguez, H. S.A.; Palomo, G. A.; Córdova, O.H., y Espinosa, B.A. 2006. Aptitud combinatoria y parámetros genéticos de maíz para forraje en la Comarca Lagunera, México. *Universidad y Ciencia* 22(2):141-151.

Submission Confirmation

Print

Thank you for your submission

Submitted to Italian Journal of Animal Science

Manuscript ID TJAS-2016-0385

Title Effect of xylanase, cellulase or natural Maguey extract on chemical composition and in vitro rumen gas production of corn silage

Authors Franco Martinez, Jose
Gonzalez Huerta, Andres
Perez Lopez, Delfina
Salem, A.Z.M.
Odongo, Nicolas
Ronquillo, Manuel

Date Submitted 25-Oct-2016

Author Dashboard >

SCHOLARONE™



© Thomson Reuters | © ScholarOne, Inc., 2016. All Rights Reserved.
ScholarOne Manuscripts and ScholarOne are registered trademarks of ScholarOne, Inc.
ScholarOne Manuscripts Patents #7,257,767 and #7,263,655.

Artículo 2:

Effect of xylanase, cellulase or natural Maguey extract on chemical composition and *in vitro* rumen gas production of corn silage

Abstract

The study considered the application of the exogenous enzymes xylanase (XYL), cellulase (CEL) and Maguey extract (1 ml per kg as fresh matter) in four maize silage varieties (San Diego, Cacahuacintle, P-1832 and Victoria) to investigate their effect on the chemical composition, gas production (GP) and *in vitro* ruminal fermentation parameters. GP was measured at 3, 6, 9, 12, 24, 36, 48, 72 and 96 hours of incubation. Data were analyzed using a completely randomized design with factorial arrangement 4 x 3. The CP content was higher ($P < 0.05$) for Victoria and P-1832 varieties, and that for Maguey extract treatment was higher ($P < 0.05$) compared to the other treatments. The GP was higher ($P < 0.05$) for San Diego and Cacahuacintle varieties and lag time was greater ($P < 0.05$) for Victoria. The addition of enzymes or Maguey extract affected dry matter digestibility ($P < 0.01$) and ME, with GP24h being higher compared with the control treatment. In conclusion, the addition of XYL, CEL and Maguey extract promotes dry matter degradation and increases their energy availability, with increased *in vitro* gas production.

Keywords: corn silage, xylanase, cellulase, Maguey extract, *in vitro* gas production.

Introduction

Corn silage is most frequently used in the feeding of dairy cows for its energy value and high production of dry matter (DM) (Peña et al., 2010). These fibrous feeds have higher concentrations of cellulose and hemicellulose, which can create a structural complex of carbohydrates and lignin, thereby reducing the digestibility of carbohydrates and decreasing the efficient utilization of feed by ruminants (Elghandour et al., 2013). Fibrolytic enzymes alter the structure of foods, making them more

susceptible to ruminal hydrolysis (Nsereko et al., 2000). Cellulases, on the other hand, cause partial hydrolysis of the plant cell wall during ensiling (Kuhad et al., 2011). Settimi et al. (2013) mention that direct application of enzymes to the substrate favors the formation of a stable enzyme-substrate complex, which increases the effectiveness of the exogenous enzymes, which can make the fiber more soluble or available for microbial activity in the rumen.

On the other hand, sustainable animal diets (StAnD) as developed by the FAO (2014), which consider the use of native resources in animal feeding, decrease environmental degradation and the loss of biodiversity, suggesting the use of native plants and their products as an option in ruminant feeding.

Currently, little attention has been paid to the use of Maguey pulquero (*Agave salmiana*, *A. mapisaga* and *A. atrovirens*), which has been reported in 136 of the 150 species in Mexico (Rzedowski and Calderon, 1990; Nobel, 1998). These species are used as food, fiber, fodder, medicine, in construction, and in the production of alcoholic beverages (Ramirez et al., 2000). Maguey extract is extracted for the preparation of “pulque”, the product of fermentation, which is a sweet, colorless, transparent liquid with a light herbal scent, rich in carbohydrates and protein. Its protein contains organic forms of nitrogen such as amino acids (Garcia et al., 2011), taking advantage of the presence of all proteinogenic amino acids found in the fluid phloem (Atkins and Beevers, 1990).

The aim of this study was to determine the effects of xylanase, cellulase and Maguey extract, applied to four maize silage varieties, on chemical characterization, in vitro gas production and fermentation parameters.

Materials and methods

Material evaluated

Four varieties of corn were used – two Creole native breeds, Cacahuacintle (white grain) and San Diego (yellow grain), and two hybrids, P-1832 (yellow grain) and Victoria (white grain) – whose

production characteristics are described by Franco et al. (2015). Plants were cut when the grains of corn reached a doughy state, at 155, 149, 176 and 168 days after planting, respectively. Whole plants of the experimental plots of each variety were cut and then chopped in a Wiley mill (DPM Junior, Noriega) to obtain a particle size of 1.5 to 4.0 cm; subsequently to form micro-silos, 1 ml of enzyme or Maguey extract was used for each product per kg of silage as fresh matter, which were weighed in quadruplicate (10 kg of fresh forage of each variety). To these were applied: 10 ml of xylanase (XYL, product consisting of 34,000 to 41,000 units xylanase / g, of 12,000 to 15,000 units of β -glucanase / g and 45,000 to 55,000 units of cellulase / g); 10 ml of cellulase (CEL, consisting of 30,000 to 36,000 units cellulase / g and from 7,500 to 10,000 units β -glucanase / g); or 10 ml of Maguey extract (Maguey extract, with 11.96 g kg⁻¹ protein, 22.7% fructose, 22% dextrose, sucrose 32.4% and 14.1% of saccharides); the respective **control** group received no additives. Subsequently three 15x30 cm polyvinyl chloride cylinders were filled with each of the varieties of maize and their respective treatments, compacted with a fodder press cylinder with a metal seal and finally covered with black plastic. The microsilos were stacked inside a cool, covered place for six months at room temperature.

Chemical composition

Forage samples for chemical analysis post-conservation were collected from silages (4 silages per sample) at opening. A minimum of 6 cores were taken from each microsilos and pooled to produce one sample per bag. Samples for chemical analysis were frozen at -18 °C before chemical composition analysis.

Pooled samples of feeds were ground to a 1mm maximum size with a Wiley mill and analyzed in duplicate following the procedures of AOAC (1997). The pH was measured immediately after opening a silo; dry matter (DM) was determined by oven drying at 105°C to constant weight (ref. 934.01), organic matter and total ash by muffle furnace (ref. 942.05), and crude protein (CP) by the Kjeldahl method (ref. 976.05). The content of neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF) and

lignin (ADL) was determined according to Van Soest et al. (1991) using an Ankom 200 Fiber Analyzer (Ankom Technol. Co. Macedon, NY, USA). NDF was assayed without α -amylase. Both NDF and ADF were expressed without residual ash. Moisture content of the silages was determined through distillation with toluene (Haigh and Hopkins, 1977).

In vitro gas production

During the first day of incubation, two dry Holstein cows (450 kg LW), fistulated in the rumen, were fed with a diet based on corn silage/alfalfa hay (60/40 ratio) supplemented with commercial concentrate (Purina R) and water *ad libitum*. The ruminal fluid was extracted at 0800 h before the cows were fed, and transported in a thermos to the laboratory and filtered using a triple layer of cheesecloth, kept at a temperature of 39°C and gassed with CO₂. Stirring solutions (Menke and Steingas, 1988) were maintained at a temperature of 39°C, and 10% of ruminal fluid was added and mixed. 800 mg of DM of each of the treatments was weighed and placed in 48 amber bottles of 120 ml (considering the 16 treatments in triplicate), with the addition of 90 ml of buffer solution. After agitation, the flasks were placed in a water bath at 39°C. Subsequently the pressure (PSI) was determined using a pressure transducer (DELTA OHM HD2124.1) and gas production was measured at 3, 6, 9, 12, 24, 36, 48, 72 and 96 h of incubation. For gas correction four flasks were used without substrate as blanks; moreover, four bottles with barley hay were used as a standard (Theodorou et al., 1994).

Calculations and statistical analysis

The kinetic parameters of GP were estimated through an iterative procedure of nonlinear regression analysis (PROC NLIN, SAS Institute 2002) according to Krishnamoorthy et al. (1991), calculated as:

$$GP = b (1 - e^{-c(t-1)}) \quad (1)$$

where GP is the volume of GP at time (t); b is the asymptotic GP (ml/g DM); c is the rate of GP (g/h), and l (h) is the discrete lag time prior to gas production.

At the end of the incubation DM degradability (DMD, mg) and OM degradability (OMD, mg) were determined; gas yield (GY_{24}) was calculated as the volume of gas (ml gas/g DM) produced after 24 h of incubation divided by the amount of DMD (g) as:

$$\text{Gas yield (GY}_{24}\text{)} = \text{ml gas. g DM}_{24\text{h}} / \text{g DMD} \quad (2)$$

Metabolizable energy (ME, MJ/kg DM) was estimated according to Menke et al. (1979) as:

$$\text{ME} = 2.20 + 0.136 \text{ GP (ml/0.5g DM)} + 0.057 \text{ CP (g/kg DM)} \quad (3)$$

Relative gas production (RGP) was calculated as milliliter of gas per gram of DMD after 48h incubation ($DMD_{48\text{h}}$). $\text{RGP} = \text{ml gas/ g DMD}_{48\text{h}}$ (4)

Short chain fatty acid concentrations (SCFA) were calculated according to Getachew et al. (2002)

$$\text{as: SCFA (mmol/200 mg DM)} = 0.0222 \text{ GP} - 0.00425 \quad (5)$$

where GP is the 24h net gas production (ml/200 mg DM).

Microbial CP biomass production was calculated according to Blummel et al. (1997) as: $\text{MCP (mg/ g DM)} = \text{mg DMD} - (\text{ml gas} \times 2.2 \text{ mg/ml})$. (6)

where 2.2mg/ml is a stoichiometric factor that expresses mg of C, H and O required for the production of SCFA gas associated with production of 1 ml of gas.

The experiment was a completely randomized design with factorial arrangement 4 x 4 (Steel et al., 1997), where the treatments were maize varieties (V) (n = 4) and additives (Control, XYL, CEL and Maguey extract) (A) (n = 4), with three replications. Data were analyzed by repeated measurements over time, using statistical procedure (SAS, 1999).

The statistical model was:

$$Y_{ijk} = \mu + V_i + A_j + (V * A)_{ij} + E_{ijk} \quad (7)$$

where Y_{ijk} = response variable of silages treated with xylanase, cellulase and Maguey extract; μ = general mean; V_i = effect of the i th variety ($i = 1-4$); J = effect of the j th additive ($j = 1-4$); $(V * A)_{ij}$ = effect of the interaction between the i th variety and the j th additive; E_{ijk} = experimental error of the i th variety, j th additive and k th repetition. Means were compared by the Tukey test with a lower probability equal to 0.5 %.

Results

Chemical composition

The interaction of the varieties and extracts had a significant effect ($P < 0.05$) for OM and CP. The CP content for corn silages San Diego and Cacahuacintle was lower ($P < 0.05$) than for P-1832 and Victoria hybrids. The concentration of NDF and ADF was higher ($P < 0.05$) in hybrids, especially for Victoria, compared with the native corns. The inclusion of Maguey extract, CEL and XYL enzymes increased ($P < 0.05$) the CP content compared to the control group. The addition of Maguey extract decreased ($P < 0.05$) the content of ADF more than the rest of the treatments (Table 1).

In vitro gas production

The application of enzymes and Maguey Extract increased the GP (ml gas / g DM) of the four genotypes; however, the greatest accumulation of gas was at 24 hours. The fermentation rate “b” was higher ($P < 0.05$) for San Diego and Cacahuacintle compared with the corn hybrids. The use of XYL increased the gas production ($P < 0.05$) followed by CEL and Maguey extract. The addition of Maguey extract, CEL and XYL had a linear increase in GP (gas ml / hour) over time, observing a greater accumulation of gas in relation to the control silage (Table 2).

Ruminal fermentation in vitro

The pH was lower ($P < 0.05$) for the variety San Diego, likewise the Maguey extract inclusion decreased the pH of the silage ($P < 0.05$) followed by XYL and CEL. The addition of enzymes or Maguey extract increased the concentration of ME and OMD compared with the control treatment, while the concentration of SCFA and MCP was higher ($P < 0.05$) for CEL and XYL compared to the control. GY24h was lower ($P < 0.05$) for the control compared with the rest of the treatments (Table 2).

Discussion

Chemical composition

The activity of enzymes and Maguey extract showed greater contribution of dry matter in the natives corns San Diego and Cacahuacintle compared with P-1832 and Victoria hybrids. This is attributable to the addition of exogenous fibrolytic enzymes, which can alter the structure of the fiber and stimulate the microbial colonization (Newbold, 1997; Giraldo et al., 2004), due to the strong reaction of the enzyme with substrate when it is incorporated into the corn (Settimi et al., 2013). In the present study the DM content was higher for CEL, XYL and Maguey extract compared to the control treatment, whereby Schingoethe et al. (1999) mention that with the use of fibrolytic enzymes DM and NDF digestibility increases. Kuhad et al. (2011) observed that the activity of cellulases could cause partial hydrolysis of the plant cell wall during ensiling. In addition the compound of the Maguey extract included 8.6% sugars (Ortiz-Basurto et al., 2008), which are actively involved in the fermentation of carbohydrates and in protein degradation to amino acids released by the feed enzymes, stabilizing the silage (Barry et al., 1980; Hopkins, 2000), together with those spiked enzymes. The highest content of CP, with the inclusion of Maguey extract with respect to the control treatment, could be due to the effect caused by the supply of 0.3% amino acids and 3% protein contained in the Maguey extract (Ortiz-Basurto et al., 2008). The effect of adding enzymes, according to Carvacho et al. (2003) and

Bayer et al. (2004) is independent of the origin of cellulases, the maguey extract contains about 35 amino acids and rich in serine and threonine, which increase the CP content in the silage.

Corn stover can be used in feed for ruminants after improving its nutritional value (Elghandour et al., 2014), using exogenous fibrolytic enzymes to enhance the degradation of carbohydrates and the cell wall (Alsersy et al., 2015; Salem et al., 2015) in the phase of ruminal preincubation (Beauchemin et al., 2003) – which is consistent with the decrease in the NDF when applying CEL, XYL and Maguey extract in the present study. The activity of these products, mainly in natives corns (i.e. Cacahuacintle) is also evident, showing a trend ($P = 0.08$) in NDF content; Muttoni et al. (2013) found that the range of variability of NDF in local maize varieties was 46.8 to 72% and 42-78% in lines derived from different germoplasm, ranking in lower concentrations in the maize cultivars evaluated in this study. Nsereko et al. (2000) found that adding fibrolytic enzymes to the fodder before ingestion alters the structure of the feed, making it more susceptible to ruminal hydrolysis. Meanwhile Casler (2001) found a reduction in the NDF content and an increase in the proportion of highly digestible soluble components with the addition of enzymes. The inclusion of enzymes such as CEL showed the greatest effect with the least content of NDF and ADF in relation to the control treatment, which is in accordance with Alsersy et al. (2015) and Salem et al. (2015) with the addition of cellulolytic enzymes in the diet of ruminants improving fiber digestion. Settimi et al. (2013) indicate that fibrolytic enzymes improve the initial degradation of structural carbohydrates of plants. The lowest content of ADF was evident using Maguey extract compared with the control, which could be due to the high amount of sugars containing this additive, optimizing the fermentation of corn silage, according to Forsberg et al. (2000). Polysaccharides provide fermentable carbohydrates to stimulate microbial growth.

In vitro gas production

The activity of the XYL, CEL and Maguey extract was reflected more strongly in the Cacahuacintle and San Diego corn natives with respect to the P-1832 and Victoria hybrids, given their remarkable

increase in GP, the time of fermentation rate and the delay time of incubation (Table 1). This could be because the germoplasm adapted to the highlands tends to accumulate anthocyanins in the midribs and pith of the stem, which is associated with a low lignin content and high polyphenolic soluble materials (Barriere and Argilliers, 1993; Estrada-Flores et al., 2003). The sugars added from Maguey extract (Lappe-Olivares et al. 2008) are glucose, fructose and sucrose; besides releasing polysaccharides in the corn plant, these provide fermentable carbohydrates to stimulate microbial growth (Vallejo et al., 2016) and increase the number of fibrolytic bacteria and not fibrolytic bacteria in the rumen, which utilize polysaccharides (Nsereko et al., 2002).

The criteria linked to GP were more efficient for native corns, except the lag time for the hybrid P-1832, which showed the fastest time (0.96 h). According to Franco et al. (2015) this latter plant material requires 176 days to harvest for silage; Van Soest (1994) notes that those genotypes that vegetatively linger to a late maturity for a longer period of time tend to be less lignified compared with early maturing genotypes. The XYL was the most efficient enzyme in terms of GP, fermentation time and lag time and had the higher cumulative GP production; Colombatto et al. (2003b) mention that if the enzyme affects the GP until the end of fermentation this means that the enzyme increases the fermentable material. The addition of XYL, CEL and Maguey extract performed better on GP and the other variables than the control. Salem et al. (2015b) found that the efficacy of enzymes depends upon the substrate specificity and dose of the enzyme; in this study the dose used of 1 ml / kg as fresh matter added to corn substrate was effective according to the results obtained with continuous activity of GP up to 96 h; however Vallejo et al. (2016) mention that the dose of 40 mg / g of xylanase or cellulase as DM applied to corn fodder has greater GP compared with other enzyme levels, with continuing effect up to 72 h; moreover Giraldo et al. (2007) assert that applying two cellulases from *Aspergillus niger* and *Trichoderma longibrachiatum* at a dose of 30 U / g substrate (70% grass hay and 30% concentrate) showed greater disappearance of DM, after 6 and 24 h, with no effect after 48 h of incubation.

In vitro fermentation

The corn silages San Diego, P-1832 and Cacahuacintle showed decreased pH, as did the XYL, Maguey extract and CEL compared with the control treatment, which could be due to the aggressive fermentation of fresh forage with the addition of sugars of Maguey extract and the direct application of exogenous enzymes that favor the formation of a stable substrate which increases the effectiveness of these enzymes in the rumen (Settimi et al., 2013) which was clearly the situation in the present study since the greatest effect on the DMD and OMD was for the varieties and additives mentioned. In contrast, the hybrid Victoria had the highest pH, with lower activity of ruminal fermentation for DMD, OMD, ME, SCFA, MCP, and GY24h, similar to the control treatment, which could be due to the difficulty of plant fermentation given the thickness of its stem. According to Franco et al. (2015) the Victoria cultivar has the thicker stem with a diameter of 2.28 cm; meanwhile Chalquer-Scott and Fuchigami (1989) demonstrated that low temperature stress can cause this cell wall thickening, as a physiological response to increase the resistance of plants. Boon et al. (2008) mention that the stem has the worst digestibility of all parts of the maize plant, since it is the more lignified; and according to Barriere et al. (2005) the lignin content is the indigestible component of the fiber fraction, playing an important part for strength but resulting in worse stem digestibility of the cell wall.

The effects on *in vitro* fermentation of corn silage when XYL, CEL and Maguey extract were added led to objectively observed increases in DMD, OMD, ME, SCFA and MCP, the latter only for XYL and CEL compared with the control treatment, being higher than the results of DMD, OMD and ME reported by Vallejo et al. (2016) when working with the addition of CEL and XYL at different doses in corn stover. In this sense Settimi et al. (2013), working with an enzyme complex (cellulase, xylanase and β -glucosidase) applied at different doses, determined that enzymes increased the *in vitro* DM digestibility of corn stover, but did not affect the digestion after long periods of ruminal incubation;

meanwhile Casler (2001) mentions that the NDF reduction translates into greater DMD, coinciding with the results of the present study.

Similar increases in OMD, ME and SCFA were obtained with the implementation of the three additives in this study; Elghandour et al. (2014) found that increased OMD-related enzymes are correlated with the fermented OM. In the case of ME, Zsubori et al. (2013) mention that their close correlation is due to the content of the OM and the degradability of forage cell wall, agreeing with Elghandour et al. (2013) who came to infer that increases in these variables were due to supplementation of XYL and CEL in the fibrous feeds evaluated.

The genotypes of yellow grain (San Diego and P-1832), and the treatments XYL and CEL showed the highest MCP, which could be because the grains of yellow corn are sweeter than white grains, leading to accelerated fermentation of the former. Moreover, the OMD increased with the addition of XYL and CEL, which overcame the problem of the slow rate of digestion of low-quality forage due to long retention times of the intake in the rumen (Leng 1990), so that exogenous fibrolytic enzymes can supplement the enzyme activities of microorganisms in the rumen and allow better digestion of the substrate during the preliminary stages, which are the most critical for digestion (Settimi et al., 2013). The increased production of MCP with the addition of XYL and CEL was evident in the present study, since with their implementation the number of total bacteria and *Fibrobacter succinogens* in the incubation medium increased (Mao et al., 2013).

The most GY24h was for the native corns San Diego and Cacahuacintle, and for the enzymes XYL and CEL, followed by Maguey extract, which could be due to increased fiber digestion and altered ruminal fermentation (Nsereko et al., 2002) and for the contribution of enzymes and sugars present in the corn silage. These results coincide with Vallejo et al. (2016), who added CEL and XYL at different doses, which together with the release of polysaccharides for the corn forage, caused a higher GY24h compared with the control treatment.

Conclusions

The application of xylanase and cellulase can be replaced by Maguey extract in corn silage, as a sustainable natural option, increasing gas production and the *in vitro* ruminal fermentation parameters, and decreasing the pH of silage compared to the control treatment.

References

Alsersy H, Salem A Z M, Borhami B E, Olivares J, Gado H M, Mariezcurrena M D, Yacuot M H, Kholif A E, El-Adawy M, Hernandez S R. 2015. Effect of Mediterranean saltbush (*Atriplex halimus*) ensilaging with two developed enzyme cocktails on feed intake, nutrient digestibility and ruminal fermentation in sheep. *Anim Sci J*. 86: 51–58.

AOAC. 1997. *Official Methods of Analysis*. 16th edn. Association of Official Analytical Chemists. Arlington, VA, USA.

Atkins C, Beevers L. 1990. Synthesis transport and utilization of translocated solutes of nitrogen. In: *Nitrogen in higher plants*. Research Studies Press. Somerset, England. pp. 223-295.

Barrière Y, Argillier O. 1993. Brown-midrib genes of maize: a review. *Agronomie* 13: 865-876.

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

Barry T N, Marsh R, Reardon T F, South A. 1980. Conservation and utilization of hay and silage. In: *Supplementary feeding*. Drew K R, Fennessy P F. Mosgiel, New Zealand. Prod Invermay Research Centre.

Bayer E A, Belaich J P, Shoham Y, Lamed R. 2004. The celulosomes: multienzyme machines for degradation of plant cell wall polysaccharides. *Annual Review of Microbiology* 58:521-554.

Beauchemin K A, Colombatto D, Morgavi P D, Yang Z W. 2003. Use of exogenous fibrolytic enzymes to improve feed utilization by ruminants. *J Anim Sci* 81(2): 37-47.

Blümmel M, Steingss H, Becker K. 1997. The relationship between *in vitro* gas production, *in vitro* microbial biomass yield and 15N incorporation and its implications for the prediction of voluntary feed intake of roughages. *Br. J. Nutr.* 77:911–921.

Boon E J M C, Struik P C, Tamminga S, Engels F M, Cone J W, 2008. Stem characteristics of two forage maize (*Zea mays* L) cultivars varying in whole plant digestibility. III. Intra-stem variability in anatomy, chemical composition and *in vitro* rumen fermentation. *NJAS-Wageningen J Life Sci* 56: 101-122

Casler M D. 2001. Breeding forage crops for increased nutritional value. *Adv Agron* 7: 51-107

Colombatto D, Mould F L, Bhat M K, Owen E. 2003. Use of fibrolytic enzymes to improve the nutritive value of ruminant diets. A biochemical and *in vitro* rumen degradation assessment. *Anim Feed Sci Technol* 107:201–209.

Chalker-Scott L, Fuchigami L H. 1989. The role of phenolic compounds in plant stress responses. In: *Low temperature stress physiology in crops*. Lee P H ed. CRC Press, Boca Raton.

Elghandour M M Y, Salem A Z M, Gonzalez-Ronquillo M, Borquez J L, Gado H M, Odongo N E and Penueles C G. 2013. Effects of exogenous enzymes on *in vitro* gas production kinetics and ruminal fermentation of four fibrous feeds. *Anim Feed Sci and Tech* 179:46– 53.

Elghandour M M Y, Vazquez Ch J C, Salem A Z M., Kholif A E, Martinez C J S, Camacho L M, Cerrillo-Soto M A. 2014. Effects of *Saccharomyces cerevisiae* at direct addition or pre-incubation on *in vitro* gas production kinetics and degradability of four fibrous feeds. *Italian J of Anim Sci* 13:295– 301.

FAO (Food and Agriculture Organization). 2014. Towards a concept of Sustainable Animal Diets, by Harinder P. S. Makkar & Philippe Ankers. FAO Animal Production and Health Report. No. 7. Rome, Italy.

Forsberg C, Forano E, Chesson A. 2000. Microbial adherence to the plant cellwall and enzymatic hydrolysis. In: Cronje, P.B. (Ed.), Ruminant Physiology: Digestion, Metabolism, Growth and Reproduction. CABI Publishing, Wallingford, UK, pp. 79–97.

Franco M J R P, Gonzalez H A, Perez L D J, Gonzalez R M. 2015. Phenotypic characterization of hybrids and varieties of forage maize in High Valley State of Mexico, Mexico. Rev Mex Cienc Agric 6(8):1915-1927.

Garcia A L, Madrid R, Gimeno V, Rodriguez-Ortega W M, Nicolas N, Garcia-Sanchez F. 2011. The effects of amino acids fertilization incorporated to the nutrient solution on mineral composition and growth in tomato seedlings. Span. J Agric Res 9(3):852-861.

Getachew G, Makkar H P S, Becker K. 2002. Tropical browses: contents of phenolic compounds, *in vitro* gas production and stoichiometric relationship between short chain fatty acid and *in vitro* gas production. J Agric Sci 139:341–352.

Giraldo L A, Ranilla M J, Tejido M L, Carro M D. 2004. Effect of enzyme application method on *in vitro* rumen fermentation of tropical forages. J Anim Feed Sci 13:63–66.

Giraldo L A, Tejido M L, Ranilla J M, Carro M D. 2007. Effects of exogenous cellulase supplementation on microbial growth and ruminal fermentation of a high-forage diet in ruminant fermenters. J Anim Sci 85:1962-1970.

Haigh PM, Hopkins JR, 1977. Relationship between oven and toluene dry matter in grass silage. J Sci Food Agric 28(6): 477-480.

Krishnamoorthy U, Soller H, Menke K H. 1991. A comparative study on rumen fermentation or energy supplements in vitro. *Phys Anim Nutr*, 65:28-35.

Kuhad R Ch, Gupta R, Singh A. 2011. Microbial cellulases and their industrial applications. *Enzyme Research*. SAGE-Hindawi Access to Research. New Delhi, India. Article ID 280696:1-10.

Lappe-Olivares P, Moreno-Terrazas R, Arrison-Gabiño J, Herrera-Suarez T. 2008. Yeasts associated with the production of mexican alcoholic non distilled and distilled Agave beverages. *FEMS Yeast Research*, 8(7):1035-1052.

Leng R A. 1990. Factors affecting the utilization of 'poor quality' forages by ruminants particularly under tropical conditions. *Nutrition Research Reviews* 3: 277–303.

Mao H L, Wu C H, Wang J K and Liu J X. 2013. Synergistic effect of cellulase and xylanase on in vitro rumen fermentation and microbial population with rice straw as substrate. *Anim Nutr and Feed Tech* 13: 477–87.

Menke, K.H., Raab, L., Salewski, A., Steingass, H., Fritz, D., Schneider, W., 1979. The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feeding stuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor *in vitro*. *J. Agric. Sci. Camb.* 93, 217–222.

Menke K H and Steingass H. 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and in vitro gas production using rumen fluid. *Anim Res Dev*, 28:7-12.

Muttoni G, Palacios-Rojas N, Galicia L, Rosales A, Pixley K V, Leon N. 2013. Cell wall composition and biomass digestibility diversity in Mexican maize (*Zea mays* L) landraces and CIMMYT inbred lines. *Maydica* 58:21-33.

Nobel P S. 1998. *Los Incomparables Agaves y Cactus*. Ed. Trillas. México. (In Spanish).

Nsereko V L, Morgavi D P, Rode L M, Beauchemin K A, McAllister T A. 2000. Effects of fungal enzyme preparations on hydrolysis and subsequent degradation of alfalfa hay fiber by mixed rumen microorganisms in vitro. *Animal Feed Science and Technology*, 88:153-170.

Nsereko VL, Beauchemin K A, Morgavi D P, Rode L M, Furtado A F, McAllister T A, Iwaasa A D, Yang W Z, Wang Y. 2002. Effect of a fibrolytic enzyme preparation from *Trichoderma longibrachiatum* on the rumen microbial population of dairy cows. *Can. J. Microbiol*, 48, 14–20.

Ortiz-Basurto R I, Pourcelly G, Doco T, Williams P, Domier M, Belleville M P. 2008. Analysis of the main components of the aguamiel produced by the Maguey-Pulquero (*Agave mapisaga*) throughout the harvest period. *J. Agric. Food Chem.*, 56(10):3682-3687.

Peña R A, González C F, Robles E F J. 2010. Manejo agronómico para incrementar el rendimiento de grano y forraje en híbridos tardíos de maíz. *Rev Mex Cienc Agríc* 1(1):27-35.

Ramírez V P, Pascka R O, Herrera A L, Castillo F, Livera M, Rincón F, Zavala F. 2000. Recursos Fitogenéticos de México para la Alimentación y la Agricultura. Informe Nacional. Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas y Sociedad Mexicana de Fitogenética, A.C. Chapingo, México. pp:1-100. (In Spanish).

Rzedowski R J, Calderón R G. 1990. Flora Fanerogámica del Valle de México. Instituto de Ecología. Michoacán, México. 394 p. (In Spanish).

Salem A Z M, Alsersy H, Camacho L M, El-Adawy M M, Elghandour M M Y, Kholif A E, Rivero N, Alonso M U and Zaragoza A. 2015a. Feed intake, nutrient digestibility, nitrogen utilization and ruminal fermentation activities of sheep fed *Atriplex halimus* ensiled with three developed enzyme cocktails. *Czech Journal of Animal Science* 60:185–94.

Salem A Z M, Ammar H, Kholif A E, Elghandour M M Y and Ortiz L B. 2015b. Effect of glucoamylase enzyme extract on *in vitro* gas production and degradability of two diets with 25% of corn or sorghum grains. *Indian Journal of Animal Sciences* **85**:183–88.

SAS, 2002. User's Guide: Statistics Ver 9.0. SAS Inst. Inc., Cary, NC, USA.

Schingoethe D J, Stegeman G A, Treacher R J. 1999. Response of lactating dairy cows to a cellulase and xylanase enzyme mixture applied to forages at the time of feeding. *Journal of Dairy Science* **82**(5):996-1003.

Settimi C C S, Nassar F R, Ayres O M, Oliveira F A, Arnhold E, Ulhoa C J. 2013. Production, characterization and evaluation of fibrolytic enzymes on digestibility of forage maize. *Cienc Anim Bras Goiania* **14**(4):426-435.

Steel R G D, Torrie J H, Dickey D A. 1997. Principles and Procedures of Statistics. In: A biometrical approach, 3rd Ed. McGraw Hill Book Co, New York, USA.

Theodorou M K, Williams B A, Dhanoa M S, McAllan A B, France J. 1994. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. *Anim. Feed Sci. Technol* **48**: 185–197.

Vallejo L H, Salem A Z M, Kholif A E, Elghangour M M Y, Fajardo R C, Rivero N, Bastida A Z, Mariezcurrena M D. 2016. Influence of cellulase or xylanase on the *in vitro* rumen gas production and fermentation of corn stover. *Indian J. Anim. Sci.* **86**(1):70-74.

Van Soest P J, Robertson J B, Lewis B A. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci* **74**:3583–3597.

Zsubori Z T, Pinter J, Spitko T, Hegyi Z, Marton C L. 2013. Yield and chemical composition of plant parts of silage maize (*Zea mays* L) hybrids and their interest for biogás production. *Maydica* **58**:34-41.

Table 1. Chemical composition (g kg /DM) of four corn varieties (V) treated with maguey extract de maguey, cellulose and xylanase

Item	Variety (V)				Treatment (Tx)				SEM	V	Tx	VxTx
	San Diego	Cacahuacincle	P-1832	Victoria	Control	Maguey extract	Cellulose	Xylanase				
DM	229a	210a	203a	171b	180b	204ab	216a	213a	7.01	0.001	0.004	0.288
OM	920	913	921	913	903c	924ab	927a	913bc	3.18	0.143	0.001	0.001
CP	76bc	71c	80ab	83a	72b	82a	77a	78a	1.30	0.001	0.001	0.001
NDF	487b	495ab	548a	544a	546	514	489	525	15.23	0.010	0.080	0.308
ADF	207b	180b	203b	245a	206ab	190b	205b	234a	9.22	0.002	0.017	0.031

DM, Dry mater; OM, organic matter; CP, crude protein; NDF, Neutral detergent fiber; ADF, Acid detergent fiber.

SEM, standard error mean. Different letters in the same row are different (P<0.05).

Table 2. Gas production (ml gas/ g DM) and ruminal in vitro fermentation parameters in for corn silage varieties (V) treated with maguey extract, cellulose and xylanase.

item	Variety (V)				Treatment (TX)				SEM	V	Tx	VxE
	Cacahua cintle	San Diego	P-1832	Victoria	Control	Maguey extract	Cellulose	Xylanase				
A	229.0a	226.2a	209.8b	198.3c	192.5c	220.3b	221.4b	229.2a	2.021	0.001	0.001	0.001
B	0.0380a	0.0396a	0.0304b	0.0313b	0.0306b	0.0371a	0.0362a	0.0353	0.000	0.001	0.001	0.001
C	-0.0436a	-0.0407a	-0.0336a	-0.0589b	-0.0575b	-0.0522b	-0.0377a	-0.0294a	0.002	0.001	0.001	0.001
Lag time	1.29b	1.27b	0.96c	2.85a	2.25a	1.87b	1.20c	1.05c	0.066	0.001	0.001	0.001
Gas3	8.01a	6.74a	7.55a	2.50b	3.84c	5.97b	7.36ab	7.62a	0.367	0.001	0.001	0.002
Gas6	24.35a	24.45a	20.90b	10.12c	11.91d	19.66c	22.71b	25.54a	0.533	0.001	0.001	0.001
Gas9	45.44b	48.75a	36.63c	24.48d	23.63d	38.69c	43.64b	49.35a	0.678	0.001	0.001	0.001
Gas12	66.43b	71.21a	52.72c	34.72d	35.47d	57.03c	62.87b	69.71a	0.886	0.001	0.001	0.001
Gas24	112.88a	114.10a	90.13b	70.48c	69.81c	100.63b	106.30a	110.85a	1.433	0.001	0.001	0.001
Gas36	151.96a	154.25a	124.84b	108.72c	104.75c	141.15b	144.35ab	149.54a	1.659	0.001	0.001	0.001
Gas48	183.52a	183.65a	152.79b	137.26c	131.78c	172.28b	173.34ab	179.82a	1.763	0.001	0.001	0.001
Gas72	206.34a	206.28a	178.57b	161.59c	155.50c	196.25b	197.29ab	203.75a	1.811	0.001	0.001	0.001
Gas96	220.20a	219.45a	194.41b	177.77c	170.90c	209.22b	211.97ab	219.74a	2.037	0.001	0.001	0.001
pH	5.09b	4.31c	4.95b	6.37a	6.13a	4.87b	5.03b	4.70b	0.225	0.001	0.001	0.001
DMD	649.8b	676.5a	617.2c	553.4d	551.2c	613.5b	663.4a	668.9a	5.344	0.001	0.001	0.001
OMD	726.5ab	744.3a	718.6b	705.3b	659.5b	746.3a	734.5a	754.4a	6.630	0.002	0.001	0.001
ME	12.4a	12.7a	11.6b	10.7c	10.1b	12.3a	12.4a	12.7a	0.109	0.001	0.001	0.001
SCFA	0.496a	0.502a	0.395b	0.308c	0.305c	0.442b	0.467a	0.488a	0.006	0.001	0.001	0.001
MCP	165.4bc	193.7a	189.5ab	162.3c	175.2ab	153.2b	197.1a	185.5a	6.584	0.002	0.004	0.001
GY _{24h}	74.1a	77.3a	56.5b	40.7c	40.5d	62.5c	70.8b	74.9a	1.045	0.001	0.001	0.001

Cellulose had 30 000 a 36 000 units of Cellulose per g and 7 500 up to 10 000 units of β -glucanase per g^{-1} .

Xylanase contains 34 000 up to 41 000 units of Xylanase g^{-1} , and 12 000 up to 15 000 units of β -glucanase g^{-1} and 45 000 to 55 000 units of cellulose. g^{-1} .

Maguey extract contain 3% of crude protein; 8.62% de azucares (fructose, dextrose, sucrose), 0.3% de aminoacidos and 3% de minerales.

A: gas production (ml g^{-1} MS); b: fermentation rate (h^{-1}); c, fermentation rate ($h^{-1/2}$); lag time: (h^{-1}). DMD: Dry mater digestibility (mg g^{-1} DM); OMD: OM digestibility (mg g^{-1} DM); ME, Metabolizable energy (Mj kg^{-1} DM); SCFA: Short chain fatty acids (mmol g^{-1} DM); MCP: Microbial crude protein (mg g^{-1} DM); GY_{24h} Gas yield at 24 h (ml gas g^{-1} DM).

SEM: standard error mean.

^{abc}Different letters in the same row are significantly different (P<0.01).

V. CONCLUSIONES GENERALES

Los maíces híbridos Victoria, H-159 y SBA-470 y las variedades criollas de grano amarillo Allende, San Cayetano y Portes Gil, y de grano blanco Tlacotepec, San Diego, Cacahuacintles Tlacotepec y San Cristobal, podrían emplearse para derivar líneas endogámicas y formar nuevas variedades e híbridos forrajeros.

La aplicación de xilanasa, celulasa y Aguamiel de maguey a ensilados de maíz incrementan la producción de gas y fermentación ruminal *in vitro*, así mismo se favorece el contenido de PC y disminuye el pH de los ensilados con respecto al control.

El ensilaje tratado con xilanasa mostro el menor pH y tuvo la mayor producción de gas a las 96 h de incubación en comparación a la celulasa y el aguamiel de maguey.

La tasa de fermentación presento un comportamiento estable para la xilanasa, celulasa y el aguamiel de maguey.

Los maíces criollos Cacahuacintle y San diego tratados con xilanasa, celulasa y aguamiel de maguey, mostraron la mayor producción de gas y mejor perfil de fermentación con excepción de la producción de biomasa microbial.

El aguamiel de maguey puede ser una alternativa de uso en la degradación de la fibra y fermentación de maíz forrajero.

VI. LITERATURA COMPLEMENTARIA

Acamovic T, McCleary B. 1996. Enzyme Special Series-Optimising the response. Feed Mix. 4:14-19.

Aguirre M J, Miranda C S. 2002. El ajuste del año trópico en Teotihuacán y su relación con la raza Cónoco de maíz. Rev. Fitotec. Mex. 25(2):223-230.

Alsersy H, Salem A Z M, Borhami B E, Olivares J, Gado H M, Mariezcurrena M D, Yacuot M H, Kholif A E, El-Adawy M, Hernandez S R. 2015. Effect of Mediterranean saltbush (*Atriplex halimus*) ensilaging with two developed enzyme cocktails on feed intake, nutrient digestibility and ruminal fermentation in sheep. J. Anim. Sci. 86: 51–58.

Aman P. 1993. Composition and structure of cell wall polysaccharides in forages. *In*: Forage Cell Wall Estructure and Digestibility. H.G. Jung, D.R. Buxton, R.D. Hatfield, J. Ralph (Eds.). ASA-CSSA-SSSA, Madison, Wisconsin, USA. 183-199pp.

Bates G. 1998. Corn silage. Agricultural Extension Service. University of Tennessee. 8p.

Bayer E A, Morag F, Lamed R. 1994. The cellulosome- a treasure- trove for biotechnology. Trends in Biotechnology 12(9):379-386.

Beauchemin K A, Colombatto D, Morgavi P D, Yang Z W. 2003. Use of exogenous fibrolytic enzymes to improve feed utilization by ruminants. J. of Anim. Sci. 81(2):37-47.

Beauchemin K A, Colombatto D, Morgavi D P, Yang W Z, Rode L M. 2004. Mode of action of exogenous cell wall degrading enzymes for ruminants. Can. J. Anim. Sci. 84:13-22.

Beauchemin K A, Holstshausen L. 2011. Developments in enzyme usage in ruminants. *In: Enzymes in Farm Animal Nutrition*. M. R. Bedford, G. G. Partridge. CABI Publishing (2nd Ed.), UK. 206-230pp.

Bhat K M, Hazlewood G P. 2003. Enzymology and other characteristics of cellulases and xylanases. *In: Enzymes in Farm Animal Nutrition*. M. R. Bedford, G. G. Partridge. CABI Publishing (Ed.), UK. pp: 11-60.

Breccia J, Morán A, Castro G, Siñeriz F. 1998. Thermal sterilization by polyols of β -xylanase from *Bacillus amyloliquefaciens*. *J. Chem. Technol. Biotech.* 71:241-245.

Buxton D R, Casler M D. 1993. Environmental and genetic effects on cell-wall composition and digestibility. *In: Forage cell wall structure and digestibility*. Jung H G et al eds. American Society of Agronomy. Crop Science Society of America and Soil Science Society of America, Madison. 685-714pp.

Castillo J M, Rojas B A, Wing Ching J R. 2009. Valor nutricional del ensilaje de maíz cultivado en asocio con vigna (*Vigna radiata*). *Agronomía Costarricense* 33:133-146.

Castro N S, López S J A, Pecina M J A, Mendoza C M C, Reyes M C. A. 2013. Exploración de germoplasma nativo de maíz en el centro y sur de Tamaulipas, México. *Rev. Mex. Cienc. Agríc.* 4(4):645-653.

Cedillo J, Vázquez-Armijo J F, González-Reyna A, Salem A Z M, Kholif A E, Hernández-Meléndez J, Martínez-González J C, De Oca Jiménez R M, Rivero N, López D. 2014. Effects of different doses of *Salix babylonica* extract on growth performance and diet in vitro gas production in Pelibuey growing lambs. *Italian Journal of Animal Science* 13:609–613.

Clark P W, Kelm S, Endres M I. 2002. Effect of feeding a corn hybrid selected for leafiness as silage or grain to lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 85: 607-612

Colombatto D, Mould F L, Bhat M K, Owen E. 2003. Use of fibrolytic enzymes to improve the nutritive value of ruminant diets. A biochemical and in vitro rumen degradation assessment. *Anim. Feed Sci. Technol.* 107:201–209.

Cysneiros C S S, Franco G L, Ulhoa C J, Diogo J M S, Ramos A K B. 2006. Efeito de enzimas fibrolíticas sobre a composição química da silagem de milho. *Ciência Animal Brasileira* 7(4):339-348.

Dawson K A, Tricarico J M. 2007. The use of exogenous fibrolytic enzymes to enhance microbial activities in the rumen and the performance of ruminant animals. In: www.engormix.com/Articles/View.aspxid=695

Deswal D, Khasa Y P, Kuhad R C. 2011. Optimization of cellulase production by a Brown rot fungus *Fomitopsis* sp. RCK2010 under solid state fermentation. *Bioresource Technology* 102(10):6065-6072.

Dobley J F, Goodman M M, Stuber Ch W. 1985. Isozyme variation in races of maize from Mexico. *Amer. J. Bot.* 72:629-639.

Dobley J. 2004. The genetics of maize evolution. *Ann. Rev. Gen.* 38:37-59.

Eichlerová I, Ruel K, Homolka L, Joseleau J P, Nerud F. 2000. Ligninolytic characteristics of *Pleurotus ostreatus* strain F6 and its monokariotic protoplast derivate P19. *Can. J. Microbiol.* 46:1153-1158.

Elghandour M M Y, Salem A Z M, Gonzalez-Ronquillo M, Borquez J L, Gado H M, Odongo N E and Penuelas C G. 2013. Effects of exogenous enzymes on in vitro gas production kinetics and ruminal fermentation of four fibrous feeds. *Anim. Feed Sci. Technol.* 179:46–53.

Espinosa C A, Tadeo R M, Arteaga E I, Turrent F A, Sierra M O, Gómez M N, Palafox C A, Valdivia B R, Trejo P V, Canales I V. 2012. Rendimiento de las generaciones F1 y F2 de híbridos trilineales de maíz en los Valles Altos de México. *Universidad y Ciencia* 28(1):57-64.

Esquivel E G, Castillo G F, Hernández C J M, Santacruz VA, García S G, Acosta G J. 2013. Aptitud combinatoria en maíz con divergencia genética en el Altiplano Mexicano. *Rev. Mex. Cienc. Agric.* 4(1):5-18.

Estrada-Flores J G, Gonzalez-Ronquillo M, Mould F L, Arriaga-Jordan C M, Castelan-Ortega O A. 2006. Chemical composition and fermentation characteristics of grain and different parts of the stover from maize land races harvested at different growing periods in two zones of central Mexico. *Anim. Sci.* 82: 845-852

FAO, Food and Agriculture Organization. 2009. Base de datos de estadística agropecuaria. En: www.faostat.fao.org. Consultada en marzo 2014.

Fazaeli H, Azizi A, Jelan Z A, Mirhadi S A. 2003. Effect of fungal treatment on the chemical composition, *in vitro* digestibility and *in sacco* degradability of wheat straw. *Proc. Br. Soc. Anim. Sci.* 166p.

Flores A M, Castañeda E H, Sanchez P F J, Romero A L, Ruiz L J. Mecanismos de conservación y uso del maguey pulquero *Agave salmiana* en el Altiplano Mexicano. Instituto

Tecnológico del Altiplano de Tlaxcala. www.somas.org.mx/pdf/pdfs-libros/agriculturasostenible6/61/42.pdf. Consultado en abril 2015.

Gado H M, Salem A Z M, Robinson P H, Hassan M. 2009. Influence of exogenous enzymes on nutrient digestibility, extent of ruminal fermentation as well as milk production and composition in dairy cows. *Anim. Feed Sci. Technol.* 154:36-46.

Gallardo I, Bárcena R, Pinos-Rodríguez J M, Cobos M, Carreón L, Ortega M E. 2010. Influence of exogenous fibrolytic enzymes on *in vitro* and *in sacco* degradation of forages for ruminants. *Ital. J. Anim. Sci.* 9:34-38.

Gámez V A J, de la O Olán M, Santacruz V A, López S H. 2014. Conservación *in situ*, manejo y aprovechamiento de maíz Palomero Toluqueño con productores custodios. *Rev. Mex. Cienc. Agric.* 5(8):1519-1530.

García-Mendoza A. 1995. Riqueza y endemismo de la familia Agavaceae en México. En: *Conservación de Plantas en Peligro de Extinción: Diferentes Enfoques*. Linares E, Dávila P, Chiang F, Bye R, Elias T (eds). Instituto de Biología, UNAM, México. 51-70pp.

Giraldo L A, Ranilla M J, Tejido M L, Carro M D. 2004. Effect of enzyme application method on *in vitro* rumen fermentation of tropical forages. *J. Anim. Feed Sci.* 13:63-66.

González A M, Martínez L J A, Villarreal Q H, Gámez G, Verde S J. 2004. La sección *Salmiana* del género *Agave* L. (Agavaceae) y su importancia alimenticia. En: *Memorias V Congreso Regional en Ciencias de los Alimentos*. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo Leon, México.

Graminha, N.E.B., Goncalves, A.Z.L., Pirota, R.D.P.B., Balsalobre, M.A.A., Da Silva, R., Gomes, E., 2008. Enzyme production by solid-state fermentation: Application to animal nutrition. *Anim. Feed Sci. Technol.* 144: 1-22.

Harris J B. 2003. Harvesting, storing and feeding silage to dairy cattle. Florida Cooperative Extension Service. Institute of Food and Agriculture Sciences. University of Florida. 7p.

Hayano K C, Calderón V C, Ibarra-Laclette E, Herrera E L, Simpson J. 2009. Analysis of gene expression and physiological responses in three Mexican maize landraces under drought stress and recovery irrigation. *PLOS ONE* 4(10):7531, doi:10.1371/journal.pone.0007531.

Henrissat B, Teeri T T, Warren R A J. 1998. A scheme for designating enzymes that hydrolyse the polysaccharides in the cell walls of plants. *FEBS Letters* 425(2):352-354.

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

Kholif A E, Khattab H M, El-Shewy AA, Salem A Z M, Kholif A M, El-Sayed M M, Gado H M, Mariezcurrena M D. 2014. Nutrient digestibility, ruminal fermentation activities, serum parameters and milk production and composition of lactating goats fed diets containing rice straw treated with *Pleurotus ostreatus*. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 27:357–364.

Kung J L, Treacher R J, Nauman G A, Smagala A M, Endres K M, Cohen M A. 2000. The effect of treating forages with fibrolytic enzymes on its nutritive value and lactation performance of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 83:115-122.

López M G, Mancilla-Margalli N A, Mendoza-Díaz G. 2003. Molecular structures of fructans from *Agave tequilana* Weber var. azul. J. Agric. Food Chem. 51:7835-7840.

Mancilla-Margalli N A, López M G. 2006. Water-soluble carbohydrates and fructan structures patterns from *Agave* and *Dasyilirion* species. J. Agric. Food Chem. 54:7832-7839.

Márquez-Araque A T, Mendoza M G D, González M S S, Buntinx D S E, Loera C O. 2007. Actividad fibrolítica de enzimas producidas por *Trametes* sp. EUM1, *Pleurotus ostreatus* IE8 y *Aspergillus niger* AD96.4 en fermentación sólida. Interciencia 32(11):780-785.

Martins A S, Vieira P F, Berchielli T T, Prado I N, Moletta J L. 2006. Consumo e digestibilidade aparente total em bovinos sob suplementação com enzimas fibrolíticas. Revista Brasileira de Zootecnia 35:2118-2124.

McAllister A T, Hristov A N, Beauchemin K A, Rode L M, Cheng K J. 2001. Enzymes in ruminant diets *In: Enzymes in Farm Animal Nutrition*. M. R. Bedford, G. G. Partridge. CABI Publishing (Ed.), UK. 145-160pp.

Meraz-Romero E, Loera-Corral O, Mendoza-Martínez G D, Meneses-Mayo M, Cobos-Peralta M A, Hernández-Sánchez D, Angeles-Campos S C, Melgarejo-Velasquez L G, Pinos-Rodríguez J M. 2012. Efecto del pH y del líquido ruminal clarificado en la estabilidad de un producto enzimático fibrolítico. Agrociencia 46(4):347-358.

Mercer K L, Perales H R. 2010. Evolutionary response of landraces to climate change in centers of crop diversity. Evol. Appl. 71:480-493.

Mijangos-Cortés J O, Corona-Torres T, Espinosa-Victoria D, Muñoz-Orozco A, Romero-Peñaloza J, Santacruz-Varela A. 2007. Differentiation among maize (*Zea mays* L.) landraces

from the Tarasca Mountain Chain, Mexico and the Chalqueño complex. *Genetic Resources and Crop Evolution* 54:309-325.

Miranda C S. 1996. La agroastronomía. En: J A Cuevas S, E Cedillo P, a Muñoz O, P Vera C (eds). *Lecturas en Etnobotánica*. Universidad Autónoma de Chapingo. Chapingo, México. 381-387pp.

Miranda C S. 1998. El mejoramiento genético del maíz en la época prehispánica. En: J A Cuevas S, E Cedillo P, A Muñoz O, P Vera C (eds). *Lecturas en Etnobotánica*. Universidad Autónoma de Chapingo. Chapingo, México. 267-282pp.

Montes-Hernández L A, Hernández-Guzmán J A, López-Sánchez H, Santacruz-Varela A, Vaquera-Huerta H, Valdivia-Bernal R. 2014. Expresión fenotípica *in situ* de características agronómicas y morfológicas en poblaciones del maíz Raza Jala. *Rev. Fitotec. Mex.* 37(4):363-372.

Morgavi D P, Beauchemin K A, Nsereko V I, Rode L M, McAllister T A, Iwaasa A D, Wang Y, Yang W Z. 2001. Resistance of feed enzymes to proteolytic inactivation by rumen micro organisms and gastrointestinal proteases. *J. Anim. Sci.* 79:1621-1630.

Muttoni G, Palacios-Rojas N, Galicia L, Rosales A, Pixley K V, Leon N. 2013. Cell wall composition and biomass digestibility diversity in Mexican maize (*Zea mays* L) landraces and CIMMYT inbred lines. *Maydica* 58:21-33.

Muzakhar K, Hayashii H, Kawaguchi T, Sumitani J, Arai M. 1998. Purification and properties of α -L-arabinofuranosidase and endo- β -D-1,4-galactanase from *Aspergillus niger*

KF-267 which liquefied the 22 okara. MIE Bioforum, Genetics, Biochemistry and Ecology of Cellulose Degradation. Suzuka, Japan. 23-133pp.

Nava P F, Mejía C J A. 2002. Evaluación de maíces precoces e intermedios en Valles Altos Centrales de México. II. Divergencia Genética. Rev. Fitotec. Mex. 25(2)187-192.

Nobel P S. 1998. Los Incomparables Agaves y Cactus. Ed. Trillas. México. (In Spanish).

Nsereko VL, Beauchemin K A, Morgavi D P, Rode L M, Furtado A F, McAllister T A, Iwaasa A D, Yang W Z, Wang Y. 2002. Effect of a fibrolytic enzyme preparation from *Trichoderma longibrachiatum* on the rumen microbial population of dairy cows. Can. J. Microbiol, 48, 14–20.

Núñez H G, Faz C R, Tovar G M R, Zavala G A. 2001. Híbridos de maíz para la producción de forraje con alta digestibilidad en el norte de México. Tec Pecu Mex 39:77-88. [In Spanish].

Onsori H, Raza Zamani M, Motalebi M, Zarghami N. 2005. Identification of over producer strain of endo-1,4-gluconase in *Aspergillus species*: Characterization of crude carboxymethyl cellulose. African Journal Bitechology 4:26-30.

Omar H A A, Abdel-Rahman H H, Fatma M, Salman S S, Abdel-Magid, Mohamed M I, Awadalla I M. 2009. Response of growing calves to diets containing different levels of exogenous enzymes mixture. Egypt J. Nutr. Feeds 12(3):385-401.

Park Y S, Kang S W, Lee J S, Hong S I, Kim S W. 2002. Xylanase production in solid state fermentation by *Aspergillus niger* mutant using statistical experimental designs. Appl. Microbiol. Biotechnol. 58:762-766.

Paulson J, Jung H, Raeth-Knight M, Linn J. 2008. Grass vs. legume forages for dairy cattle. Minnesota Nutrition Conference, USA. 1-3pp.

Peña R A, González C F, Núñez H G, Jiménez G C. 2004. Aptitud combinatoria de líneas de maíz para alta producción y calidad forrajera. *Rev. Fitotec. Mex.* 27:1-6.

Peña, R. A.; González, C. F. y Robles, E. F. J. 2010. Manejo agronómico para incrementar el rendimiento de grano y forraje en híbridos tardíos de maíz. *Rev. Mex. Cienc. Agríc.* 1(1):27-35.

Peña R A, González C F, Núñez H G, Tovar G M R, Vidal M V A, Ramírez D J L. 2012. Heterosis y aptitud combinatoria para producción y calidad de forraje en seis poblaciones de maíz. *Rev. Mex. Cienc. Pecu.* 3(3):389-406.

Percival Zhang Y H, Himmel M E, Mielenz J R. 2006. Outlook for cellulase improvement: screening and selection strategies. *Biotechnology Advances* 24(5):452-481.

Polanco J A, Flores M T. 2008. Bases para una política de I&D en innovación de la cadena de valor del maíz. *Foro Consultivo Científico y Tecnológico.* México, D. F. 244 p.

Polizeli M L, Rizzatti A C, Monti R, Terenzi H F, Jorge J A, Amorín D S. 2005. Xylanases from fungi: properties and industrial application. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 67:577-591.

Reynoso Q C A, González H A, Pérez L D J, Franco M O, Torres F J L, Velázquez C G A, Breton L C, Balbuena M A, Mercado V O. 2014. Análisis de 17 híbridos de maíz sembrados en 17 ambientes de los Valles Altos del centro de México. *Rev. Mex. Cienc. Agríc.* 5(5):871-882.

Rocandio-Rodríguez M, Santacruz-Varela A, Córdova-Téllez L, López-Sánchez H, Castillo-González F, Lobato-Ortiz R, García-Zavala J, Ortega-Paczka R. 2014. Caracterización morfológica y agronómica de siete razas de maíz de los Valles Altos de México. *Rev. Fitotec. Mex.* 37(4):351-361.

Rojo R, Kholif A E, Salem A Z M, Elghandour M M Y, Odongo N E, Montes de Oca R, Rivero N, Alonso M U. 2015. Influence of cellulase addition to dairy goat diets on digestión and fermentation, milk production and fatty acid content. *Journal of Agricultural Science, Cambridge*, doi:10.1017/S0021859615000775. www.researchgate.net/publication/281273665

Romero P J, Castillo G F, Ortega P R. 2002. Cruzas de poblaciones nativas de la Raza Chalqueño: II. Grupos genéticos, divergencia genética y heterosis. *Rev. Fitotec. Mex.* 25(1):107-115.

Ruiz C J A, Sánchez G J J, Hernández C J M, Willcox M C, Ramírez O G, Ramírez D J L y González E D R. 2013. Identificación de razas mexicanas de maíz adaptadas a condiciones deficientes de humedad mediante datos biogeográficos. *Rev. Mex. Cienc. Agríc.* 4(6): 829-842.

Rzedowski R J, Calderón R G. 1990. *Flora Fanerogámica del Valle de México*. Instituto de Ecología. Michoacán, México. 394 p. (In Spanish).

Salem A Z M, Kholif A E, Elghandour M M Y, Buendía G, Mariezcurrena M D, Hernandez S R, Camacho L M. 2014. Influence of oral administration of *Salix babylonica* extract on milk production and composition in dairy cows. *Italian Journal of Animal Science* 13: 10 –14.

Salem A Z M, Alersy H, Camacho L M, El-Adawy M M, Elghandour M M Y, Kholif A E, Rivero N, Alonso M U and Zaragoza A. 2015. Feed intake, nutrient digestibility, nitrogen utilization and ruminal fermentation activities of sheep fed *Atriplex halimus* ensiled with three developed enzyme cocktails. *Czech Journal of Animal Science* **60**:185–94.

Sánchez G J J, Goodman M M. 1992a. Relationships among Mexican and some North American and South American races of maize. *Maydica* 37:41-51.

Sánchez G J J, Goodman M M. 1992b. Relationships among the Mexican races of maize. *Econ. Bot.* 46(1):72-85.

Sánchez G J J, Goodman M M, Stuber Ch W. 2000. Isozymatic and morphological diversity in the races of maize of Mexico. *Econ. Bot.* 54:43-59.

Sang-Mok L, Koo Y M. 2001. Pilot-scale production of cellulose using *Trichoderma reesei* Rut C-30 in fed-batch mode. *Journal of Microbiology and Biotechnology* 11(2):229-233.

Settimi C C S, Nassar F R, Ayres O M, Oliveira F A, Arnhold E, Ulhoa C J. 2013. Production, characterization and evaluation of fibrolytic enzymes on digestibility of forage maize. *Cienc Anim Bras Goiania* 14(4):426-435.

Smith M E, Castillo G F, Gómez F. 2001. Participatory plant breeding with maize in México and Honduras. *Euphytica* 122:551-565.

Staples C R. 2003. Corn silage for dairy cows. Institute of Food and Agricultural Sciences. University of Florida. 7p.

Sun Y, Cheng J. 2002. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review. *Bioresource Technology* 83(1):1-11.

Sun Z H, Liu S M, Tayo G O, Tang S X, Tan Z L, Lin B, He Z X, Hang X F, Zhou Z S, Wang M. 2009. Effects of cellulase or lactic acid bacteria on silage fermentation and in vitro gas production of several morphological fractions of maize stover. *Anim. Feed Sci. Techn.* 152: 219-231

Sung H G, Kobayashi Y, Chang J, Ha A, Hwang I H, Ha J K. 2007. Low ruminal pH reduces dietary fiber digestion via reduced microbial attachment. *AsianAustralasian Journal of Animal Science* 20:200–207.

Tajima K, Aminov R I, Nagamine T, Matsui H, Nakamura M, Benno Y. 2001. Diet-dependent shifts in the bacterial population of the rumen revealed with real-time PCR. *Applied and Environmental Microbiology* 67:2766–2774.

Tang S, Tan Z, Zhou C, Jiang H, Jiang Y, Sheng L. 2006. A comparison of in vitro fermentation characteristics of different botanical fractions of mature maize stover. *J. Anim. Feed Sci.* 15: 505-515

Thomas E D, Mandebvu P, Ballard C S, Sniffen C J, Carter M P, Beck J. 2001. Comparison of corn silage hybrids for yield, nutrient composition, in vitro digestibility, and milk yield by dairy cows. *J. Dairy Sci.* 84: 2217-2226

Togtokhbayar N, Cerrillo, M A, Rodríguez G B, Elghandour M M Y, Salem A Z M, Urankhaich C, Jigjidpurev S, Odongo N E, Kholif A E. 2015. Effect of exogenous xylanase on

rumen *in vitro* gas production and degradability of wheat straw. *Animal Science Journal* 86:765-771.

Turrent A, Wise T, Garvey E. 2012. Factibilidad de alcanzar el potencial productivo de maíz en México. Woodrow Wilson International Center for Scholars. Mexican Rural Development Research Reports. Reporte 24.36, en: www.ase.tufts.edu/gdae/pubs/wp/12-03TurrentMexMaize.pdf. Consultado en marzo 2014.

Turrent F A, Espinosa C A, Cortés F J I, Mejía A H. 2014. Análisis de la estrategia MasAgro-maíz. *Rev. Mex. Cienc. Agríc.* 5(8):1531-1547.

Valdes K I, Salem A Z M, Lopez S, Alonso M U, Rivero N, Elghandour M M Y, Domínguez I A, Ronquillo M G, Kholif A E. 2015. Influence of exogenous enzymes in presence of *Salix babylonica* extract on digestibility, microbial protein synthesis and performance of lambs fed maize silage. *Cambridge Journal of Agriculture Science* 153:732–742.

Van Soest P J. 1982. *Nutritional Ecology of the Ruminant*. Cornell University Press, Ithaca, N.Y. USA. p 374.

Van Soest P J. 1994. *Nutritional ecology of the ruminant*. Cornell University. Press, Ithaca, NY. p 375.

Vallejo L H, Salem A Z M, Kholif A E, Elghangour M M Y, Fajardo R C, Rivero N, Bastida A Z, Mariezcurrena M D. 2016. Influence of cellulase or xylanase on the *in vitro* rumen gas production and fermentation of corn stover. *Indian J. Anim. Sci.* 86(1):70-74.

Wallace R J, Wallace S J A, McKain N, Nsereko V L, Hartnell G F. 2001. Influence of supplementary fibrolytic enzymes on the fermentation of corn and grass silages by mixed ruminal microorganisms in vitro. *J. Anim. Sci.* 79:1905-1916.

Wellhausen E J, Roberts L M, Hernández X E. 1951. Razas de maíz en México, su origen, características y distribución. Oficina de Estudios Especiales. Secretaria de Agricultura y Ganadería. México, D. F. Folleto Técnico No. 5. 237 p.

Wong K, Tan L, Saddler J. 1988. Multiplicity of β -xylanase in microorganism functions and applications. *Microbiol. Rev.* 52:305-317.

Wu M, Shi Chang L, Jian Ming Y, Ren Rui P, Zeng Liang Y. 2005. Mutant of a xylanase producing strain of *Aspergillus niger* in solid state fermentation by low energy ion implantation. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 21:1045-1049.

Yang W Z, Beauchemin K A, Rode L M. 2000. A comparison of methods of adding fibrolytic enzymes to lactating cow diets. *J. Dairy Sci.* 83:2512-2520.

Yescas-Yescas R, Barcena-Gama G, Mendoza-Martínez S, González-Muñoz M, Cobos-Peralta M, Ortega M. 2004. *In situ* digestibility of corn stover or straw diets with fibrolytic enzymes. *Agrociencia* 38:23-31.

Zsubori Z T, Pinter J, Spitko T, Hegyi Z, Marton C L. 2013. Yield and chemical composition of plant parts of silage maize (*Zea mays* L.) hybrids and their interest for biogas production. *Maydica* 58:34-41.

