

# Producción de biogás de híbridos de sorgo forrajeros fotosensitivos y sileros que difieren en la presencia de mutaciones *bmr*

Artículo largo



Elisa Erbetta<sup>1,2\*</sup>; Nadia Gabbanelli<sup>1,3</sup>; Laura Echarte<sup>1,2</sup>; Carla Alfonso<sup>1,2</sup>; María Mercedes Echarte<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Innovación para la Producción Agropecuaria y Desarrollo Sostenible, Argentina

<sup>2</sup>Facultad de Ciencias Agrarias, <sup>3</sup>Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional de Mar del Plata, Argentina

\*erbetta.elisa@inta.gob.ar

## Resumen

Se estudió la aptitud de híbridos de sorgo forrajeros fotosensitivos (FF) y sileros (FS) con y sin mutaciones *bmr* para la producción de biogás. Se caracterizó la composición de la biomasa y se determinaron los parámetros cinéticos y el potencial de producción de biogás, el contenido de metano y el rendimiento de biogás. Híbridos FS presentaron mayor producción específica de biogás independientemente de la presencia de mutaciones *bmr*. Las mutaciones *bmr* aumentaron la tasa máxima de producción de biogás en ambos tipos de sorgo, aunque el efecto fue mayor en híbridos FF. El contenido de metano del biogás fue en promedio 52,6 %. Se observó una reducción en el rendimiento de biogás en híbridos FF *bmr* debido a un menor rendimiento de biomasa. La utilización de híbridos FS *bmr* permitiría maximizar el rendimiento específico, la tasa máxima de producción y el rendimiento por unidad de superficie de biogás.

### Palabras clave:

Potencial de producción de biogás; Rendimiento en biogás; Composición de la biomasa.

## Biogas production of photosensitive hybrids of forage sorghum and sileros that differentiate in the presence of *bmr* mutations

### Abstract

The potential of different forage sorghum hybrids (photosensitive –FF- or silage –FS-) with and without *bmr* mutations were assessed for biogas production. Biomass composition, kinetic parameters and biochemical potential of biogas production, methane content of biogas and biogas yield were determined. Silage hybrids presented higher specific biogas production regardless of the presence of *bmr* mutations. *Bmr* mutations increased the maximum biogas production in both silage and photosensitive sorghum hybrids but such effect was higher in photosensitive ones. Methane content of biogas was on average 52,6 %. A reduction in biogas yield was observed only in *bmr* photosensitive hybrids due to a decrease in biomass yield. The use of silage *bmr* sorghum biomass could allow for increased specific biogas production, maximum biogas production rate and the biogas yield simultaneously.

### Keywords:

Biogas potential production; Biogas yield; Biomass composition.

**Forma de citar:** Erbetta, E., Gabbanelli, N., Echarte, L., Alfonso, C., y Echarte, M. M. (2021). Producción de biogás de híbridos de sorgo forrajeros fotosensitivos y sileros que difieren en la presencia de mutaciones *bmr*. RedBioLAC, 5, 77-81.

## Introducción

El sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) resulta en una alternativa interesante como sustrato vegetal para la producción de biogás ya que presenta alta adaptabilidad a suelos marginales, alto potencial de rendimiento, tolerancia a la sequía y alta eficiencia en el uso de nitrógeno (Theuretzbacher *et al.*, 2013; Mitchel *et al.*, 2016). El sorgo puede clasificarse de acuerdo con su uso en sorgo granífero, que incluye aquellos genotipos cultivados para la producción de grano, y en sorgo forrajero, utilizado para pastoreo directo, henificación, o la confección de silaje (Cangiano & Brizuela, 2011; Bean *et al.*, 2013). El sorgo forrajero ha sido mejorado genéticamente con el fin de aumentar el rendimiento (incorporación de sensibilidad al fotoperíodo) y/o la calidad de la biomasa (mutaciones brown midrib; *bmr*), entre otras (Cangiano & Brizuela, 2011). La sensibilidad al fotoperíodo ha permitido prolongar el periodo de crecimiento, generando plantas de gran tamaño con poca o nula producción de granos. La incorporación de la mutación *bmr* ha reducido el contenido y/o alterado la composición de lignina (Sattler *et al.*, 2010). Esta última modificación impactó positivamente en la conversión de la biomasa en azúcares simples, y por ello, el efecto de las mutaciones *bmr* para la producción de etanol ha sido previamente caracterizada (Saballos *et al.*, 2008; Dien *et al.*, 2009; da Silva *et al.*, 2020). En contraste, no existe información exhaustiva acerca de la utilización de híbridos de sorgo *bmr* para la producción de biogás. Por otra parte, se desconoce si los efectos de la mutación *bmr* sobre

caracteres que afectan la producción de biogás depende de la capacidad de las plantas de sorgo de producir granos. El objetivo de este trabajo es determinar los efectos de mutaciones *bmr* sobre: 1- la calidad de la biomasa para la producción de biogás; 2- la cinética de producción de biogás y; 3- el rendimiento potencial de biogás de híbridos de sorgo forrajeros fotosensitivos (FF) y sileros (FS).

## Metodología

Se realizó un ensayo en la UIB (EEA INTA Balcarce-FCA, UNMdP) durante la campaña de cultivo 2018/2019. Los tratamientos incluyeron híbridos de sorgo FF y FS que difieren en la presencia/ausencia de mutaciones *bmr* (Tabla 1). El diseño fue en bloques completos aleatorizados con tres repeticiones. Los híbridos fueron cosechados en el estadio de grano pastoso-duro en los híbridos FS o en el momento en que la biomasa presentó entre un 30-35 % de materia seca (MS) en híbridos FF. Las muestras de biomasa se secaron a 60 °C hasta peso constante y luego se molieron y tamizaron con una malla de 2 mm. Se determinó el contenido de sólidos totales y sólidos volátiles (SV) mediante la metodología propuesta por NREL (2008). Se precisó el contenido de fibra detergente ácido (FDA), fibra detergente neutro (FDN) y lignina detergente ácido (LDA) mediante el sistema Ankom (Ankom Technology, Fairport, NY, USA). Se calculó el contenido de celulosa como la diferencia entre FDA y LDA y el contenido de hemicelulosa como la diferencia entre FDN y FDA (Dumas, 1831).

**Tabla 1** | Características de los híbridos utilizados en el ensayo.

| Híbrido           | Empresa               | Tipo                    | BMR |
|-------------------|-----------------------|-------------------------|-----|
| Green Feed        | San Pedro Semillas    | Forrajero fotosensitivo | NO  |
| ADV 2010          | Advanta Semillas SAIC | Forrajero fotosensitivo | NO  |
| Green Supremo Max | San Pedro Semillas    | Forrajero silero        | NO  |
| Sugargraze AR     | Advanta Semillas SAIC | Forrajero silero        | NO  |
| TFI 1416 BMR      | Tobin                 | Forrajero fotosensitivo | SÍ  |
| Nutrigen          | Genesis Seeds         | Forrajero silero        | SÍ  |
| Nusil 500 BMR     | Nuseed                | Forrajero silero        | SÍ  |
| Nusil 600 BMR     | Nuseed                | Forrajero silero        | SÍ  |

Se determinó el potencial de producción de biogás (PB) de cada unidad experimental mediante el protocolo VDI 4630 (VDI, 2006). Se utilizó un inóculo compuesto por partes iguales (en SV) de purín de cerdo, guano de gallina y efluente de una planta de procesamiento de papa, aclimatado y estabilizado de acuerdo con la metodología propuesta por Steinmetz *et al.* (2016). El volumen de biogás se cuantificó mediante método manométrico. La producción de biogás se ajustó al modelo cinético de Gompertz modificado (Gadhamshetty *et al.*, 2010) mediante el programa Sigmaplot v.11, y se obtuvieron los parámetros cinéticos Ps (producción potencial de biogás al final del tiempo de incubación), Rm (tasa máxima de producción de biogás) y  $\lambda$  (fase lag). Se calculó el rendimiento potencial de biogás

(RPB;  $m^3 ha^{-1}$ ) como el producto entre Ps y el rendimiento de SV ( $Mg ha^{-1}$ ). La información obtenida fue analizada mediante un ANOVA considerando como factores el tipo de híbrido (FF o FS), la presencia o ausencia de mutaciones *bmr* y la interacción entre ambos factores. La comparación de medias de los híbridos se realizó mediante un test de Tukey con un 5 % de confianza.

## Resultados y discusión

En la **Tabla 2** se presentan los porcentajes de los principales componentes de la biomasa. Los híbridos Green Feed y TFI 1416 BMR presentaron los mayores contenidos de cenizas.

En general, las hojas de las plantas herbáceas presentan mayor contenido de cenizas que los tallos (Elbersen *et al.*, 2017). Consistentemente, los híbridos Green Feed y TFI 1416 BMR mostraron mayor proporción de hojas en las plantas (30,0±2,6 y 25,5±3,1 %, respectivamente). Los contenidos de celulosa (CV=7,1 %) y hemicelulosa (CV=4,9 %) fueron similares, mientras que el contenido de lignina fue significativamente diferente entre híbridos (CV=21,3 %) y dependió de la presencia de mutaciones

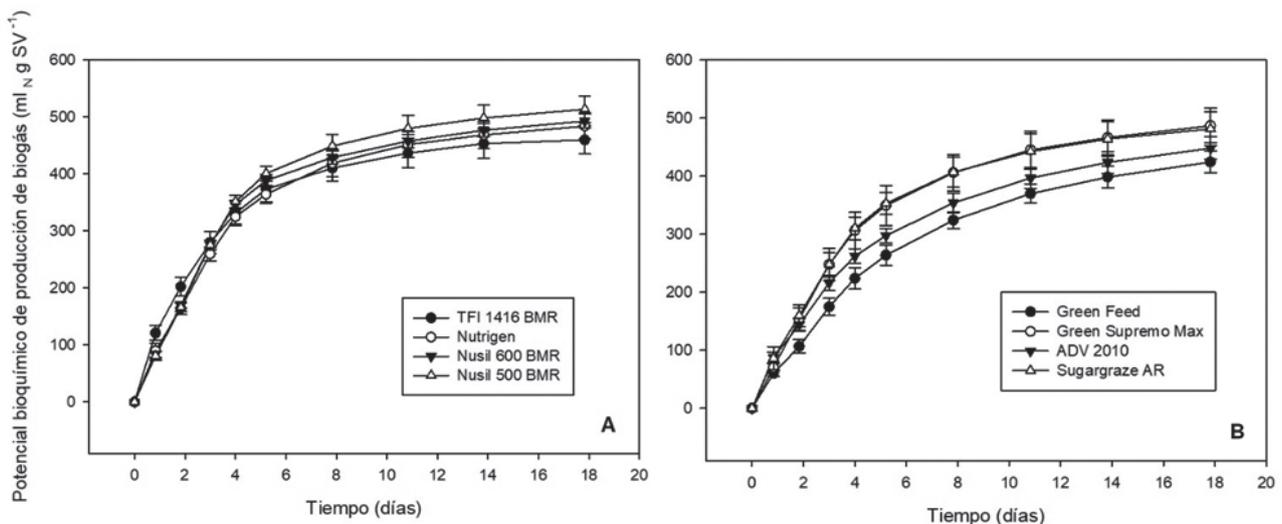
*bmr*. El porcentaje de lignina promedio de híbridos convencionales fue de 6,4±0,6 %, mientras que el de los híbridos *bmr* fue de 4,5±0,3 %, valores similares a los reportados por otros autores (Bean *et al.*, 2013; de Almeida *et al.*, 2019). El híbrido ADV 2010 se destacó por su alto contenido de celulosa e intermedio de lignina, mientras que Nutrigen presentó el contenido más alto de lignina entre los híbridos *bmr*.

**Tabla 2 |** Composición de la biomasa de híbridos de sorgo. Para la variable cenizas, los datos corresponden a la media ± error estándar, n=3. Para las variables celulosa, hemicelulosa y lignina, el valor consignado corresponde a una única réplica.

| Híbrido           | Cenizas (%) | Celulosa (%) | Hemicelulosa (%) | Lignina (%) |
|-------------------|-------------|--------------|------------------|-------------|
| Green Feed        | 9,6         | 22,4         | 22,2             | 8,1         |
| ADV 2010          | 6,5         | 27,2         | 23,7             | 6,2         |
| Green Supremo Max | 8,2         | 18,8         | 20,6             | 6,0         |
| Sugargraze AR     | 7,2         | 24,6         | 23,4             | 5,2         |
| TFI 1416 BMR      | 10,2        | 26,4         | 23,6             | 4,2         |
| Nutrigen          | 7,7         | 24,4         | 24,0             | 5,3         |
| Nusil 500 BMR     | 7,7         | 21,8         | 24,7             | 4,0         |
| Nusil 600 BMR     | 8,5         | 21,8         | 22,4             | 4,5         |

En la **Figura 1** se presentan las curvas de producción de biogás de los híbridos evaluados. El PB varió entre 424,4 y 513,5 ml<sub>N</sub> g SV<sup>-1</sup>. Híbridos *bmr* mostraron cinéticas de producción similares. Plantas de sorgo FF presentaron menores valores de PB que híbridos FS. Simultáneamente, las formas de las curvas dan indicios de diferencias en la

tasa de producción de biogás. Por ejemplo, híbridos *bmr* presentaron curvas de tipo “normal”, caracterizadas por un incremento abrupto de la cantidad de biogás acumulado. En contraste, los híbridos Green Feed y ADV 2010 presentaron una forma de curva de tipo “degradación retardada”, típica de sustratos que se degradan con dificultad (VDI, 2006).



**Figura 1 |** Curvas de producción de biogás de híbridos de sorgo *bmr* (A) y convencionales (B).

En ningún caso se detectó una fase lag significativa, a diferencia de lo que ocurre con otros sustratos como residuos de trigo (12,69 días; Rajput & Visvanathan, 2018) o residuos de maíz (8,1 días; Wang *et al.*, 2016). Los valores promedio de Ps de los sorgos evaluados (**Tabla 3**) fue similar a los reportados en maíz (Grieder *et al.*, 2012), pero notablemente superiores a otros cultivos energéticos como *Miscanthus* (Xue *et al.*, 2020). El valor de Ps fue mayor en híbridos FS que en FF ( $p < 0,0001$ ). Un mayor contenido de grano en híbridos FS, y por ende mayor aporte de almidón, podría explicar una superior producción específica de biogás, de acuerdo a lo observado por Windpassinger *et al.* (2015). Para un mismo tipo de híbrido, la Ps fue levemente

superior en presencia de mutaciones *bmr* ( $p = 0,0219$ ), sugiriendo efectos aditivos entre el tipo de híbrido (FS o FF) y la presencia de mutaciones *bmr*.

El valor de Rm varió entre 96,1 y 52,1  $\text{m}^3 \text{MgSV}^{-1} \text{día}^{-1}$  y fue mayor en híbridos FS *bmr* (Nusil 600 BMR, Nusil 500 BMR y Nutrigen), intermedia para FS convencionales y FF *bmr* (Green Supremo Max, Sugargraze AR y TFI 1416 BMR), y menor para híbridos FF convencionales (ADV 2010 y Green Feed), evidenciando una interacción “tipo de híbrido x mutación *bmr*” significativa ( $p = 0,0338$ ). Estos valores de Rm fueron en promedio superiores a los reportados en otros cultivos (Grieder *et al.*, 2012; Xue *et al.*, 2020).

**Tabla 3** | Parámetros cinéticos de la ecuación de Gompertz modificada, porcentaje de metano del biogás y rendimiento potencial de biogás (RPB) de híbridos de sorgo FF y FS que difieren en la presencia de mutaciones *bmr*. Híbridos con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ ).

| Híbrido           | Ps<br>( $\text{m}^3 \text{Mg}_{\text{SV}}^{-1}$ ) | Rm<br>( $\text{m}^3 \text{MgSV}^{-1} \text{día}^{-1}$ ) | Metano<br>(%) | RPB<br>( $\text{m}^3 \text{ha}^{-1}$ ) |
|-------------------|---|---|---------------|--|
| Green Feed        | 406,5 c   | 52,1 c  | 53,1 a        | 11 552,7 ab                            |
| ADV 2010          | 425,6 bc  | 59,2 c  | 53,6 a        | 14 849,2 a                             |
| Green Supremo Max | 463,3 ab  | 79,6 b  | 52,9 a        | 10 049,0 ab                            |
| Sugargraze AR     | 459,9 ab  | 78,1 b  | 52,1 a        | 6314,4 b                               |
| TFI 1416 BMR      | 439,7 bc  | 80,8 b  | 52,7 a        | 8758,8 ab                              |
| Nutrigen          | 464,1 ab  | 83,8 ab   | 52,6 a        | 8284,2 ab                              |
| Nusil 600 BMR     | 469,3 ab  | 95,3 a  | 52,9 a        | 9409,5 ab                              |
| Nusil 500 BMR     | 492,6 a   | 96,1 a  | 51,2 a        | 9393,9 ab                              |

El porcentaje de metano del biogás fue de 52,6 % en promedio y no varió entre híbridos. Las diferencias en los valores de RPB entre híbridos estuvieron mayormente explicadas por las diferencias en el rendimiento de biomasa. Por ejemplo, los híbridos Green Feed y ADV 2010 fueron los que presentaron mayores valores de RPB, pese a tener el menor valor de Ps. De igual manera, la presencia de la mutación *bmr* redujo el RPB únicamente en híbridos FF, explicado principalmente por un efecto negativo sobre el rendimiento de biomasa atribuible a la presencia de estas mutaciones.

## Conclusiones

La producción potencial de biogás fue mayor en híbridos FS, híbridos con mayor contenido de granos. Las mutaciones *bmr* aumentaron la tasa máxima de producción de biogás tanto en híbridos FS como en FF, aunque tal efecto fue de mayor magnitud en estos últimos. En híbridos FF la disminución del rendimiento de biomasa producida por la mutación *bmr* resultó en un menor rendimiento potencial de biogás. Teniendo en cuenta todos parámetros analizados, la utilización de híbridos FS *bmr* (Nusil 500 BMR y Nusil 600 BMR) permitiría obtener simultáneamente la mayor cantidad de biogás por superficie y por unidad de SV, a la mayor tasa de producción.

## Agradecimientos

Al Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA, PD I149), Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), y Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata por la financiación. Se agradece empresas consignadas en la **Tabla 1** por el aporte de semilla. Este trabajo de investigación forma parte de la tesis desarrollada en la carrera de Doctorado de Ciencias Agrarias de la estudiante Elisa Erbetta en la Universidad Nacional de Mar del Plata.

## Referencias

- Bean, B. W., Baumhardt, R. L., McCollum III, F. T., & McCuiston, K. C. (2013). Comparison of sorghum classes for grain and forage yield and forage nutritive value. *Field Crops Research*, 142, 20-26. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2012.11.014>
- Cangiano, C. A., y Brizuela, M. A. (2011). Especies forrajeras cultivadas en Argentina. En: Cangiano, C. A., y Brizuela, M. A. (Eds). *Producción Animal en Pastoreo*, (pp. 31-55). Ediciones INTA.
- da Silva, M. J., Borges Damasceno, C. M. B., Texeira Guimarães, C., de Oliveira Pinto, M., de Almeida

- Barros, B., de Souza Carneiro, J. E., Schaffert, R. E., & da Costa Parrella, R. A. (2020). Introgression of the bmr6 allele in biomass sorghum lines for bioenergy production. *Euphytica*, 216, 1-12.
- Gomes Fonseca de Almeida, L., da Costa Parraella, R. A., Ferreira Simeone M. L., Oliveira Ribeiro, P. C., Pereira Barbosa, G. M., Brito, P. L., Vieira da Costa, A. S., & Soares dos Santos, A. (2019). Characterization of cell wall polysaccharides and cellulosic ethanol potential in genotypes of sorghum biomass. *International Journal of Development Research*, 9(4), 26810-26820.
- Dien, B. S., Sarath, G., Pedersen, J. F., Sattler, S. E., Chen, H., Funnell-Harris, D. L., Nichols, N., & Cotta, M. A. (2009). Improved sugar conversion and ethanol yield for forage sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) lines with reduced lignin contents. *BioEnergy Research*, 2(3), 153-164.
- Dumas, J. B. A. (1831). *Procédes de l'analyse organique*. *Annals of Chemistry and of Physics*, 47, 198-213.
- Elbersen, W., Lammens, T. M., Alakangas, E. A., Annevelink, B., Harmsen, P., & Elbersen, B. (2017). Lignocellulosic biomass quality: Matching characteristics with biomass conversion requirements. *Modeling and Optimization of Biomass Supply Chains*, 55-78. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812303-4.00003-3>
- Gadhamshetty V., Arudchelvam Y., Nirmalakhandan N., & Johnson D. C. (2010). Modeling dark fermentation for biohydrogen production: ADM1-based model vs Gompertz model. *International Journal Hydrogen Energy*, 35, 479-490. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2009.11.007>
- Grieder, C., Mittweg, G., Dhillon, B. S., Montes, J. M., Orsini, E., & Melchinger, A. E. (2012). Kinetics of methane fermentation yield in biogas reactors: Genetic variation and association with chemical composition in maize. *Biomass and Bioenergy*, 37, 132-141. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2011.12.020>
- Rajput, A. A., & Visvanathan, C. (2018). Effect of thermal pretreatment on chemical composition, physical structure and biogas production kinetics of wheat straw. *Journal of Environmental Management*, 221, 45-52. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.05.011>
- Saballos, A., Vermerris, W., Rivera, L., & Ejeta, G. (2008). Allelic association, chemical characterization and saccharification properties of brown midrib mutants of sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench). *BioEnergy Research*, 1(3), 193-204. <https://doi.org/10.1007/s12155-008-9025-7>
- Sattler, S. E., Funnell-Harris, D. L., & Pedersen, J. F. (2010). Brown midrib mutations and their importance to the utilization of maize, sorghum, and pearl millet lignocellulosic tissues. *Plant Science*, 178(3), 229-238. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2010.01.001>
- Sluiter, A., Hames B., Ruiz, R., Scarlata, C., Sluiter J., & Templeton D. (2008). Determination of ash in biomass. Technical Report NREL/TP-510-42622. National Renewable Energy Laboratory; 2008. <https://www.nrel.gov/docs/gen/fy08/42622.pdf>
- Radis Steinmetz, R. L., Mezzari, M. P., Busi da Silva, M. L., Kunz, A., Cestonaro do Amaral, A. C., Tápparo, D. C., & Moreira Soares, H. (2016). Enrichment and acclimation of an anaerobic mesophilic microorganism's inoculum for standardization of BMP assays. *Bioresource Technology*, 219, 21-28. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.07.031>
- Theuretzbacher, F., Bauer, A., Lizasoain, J., Becker, M., Rosenau, T., Potthast, A., Friedl, A., Piringer, G., & Gronauera, A. (2013). Potential of different *Sorghum bicolor* (L. moench) varieties for combined ethanol and biogas production in the Pannonian climate of Austria. *Energy*, 55, 107-113. <https://doi.org/10.1016/j.energy.2013.04.020>
- VDI 4630. (2006). Fermentation of organic materials, characterisation of the substrate, sampling, collection of material data, fermentation tests. (2006). *Energietechnik*. Berlin: Beuth Verlag GmbH, 44-59. <https://www.beuth.de/en/technical-rule/vdi-4630/86939477>
- Wang, F., Zhang, D., Wu, H., Yi, W., Fu, P., Li, Z., & Li, Y. (2016). Enhancing biogas production of corn stover by fast pyrolysis pretreatment. *Bioresource Technology*, 218, 731-736. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.07.025>
- Xu, N., Liu, S., Xin, F., Zhou, J., Jia, H., Xu, J., Jiang, M., & Dong, W. (2019). Biomethane production from lignocellulose: biomass recalcitrance and its impacts on anaerobic digestion. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 7, 191. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2019.00191>
- Xue, Y., Li, Q., Gu, Y., Yu, H., Zhang, Y., & Zhou, X. (2020). Improving biodegradability and biogas production of miscanthus using a combination of hydrothermal and alkaline pretreatment. *Industrial Crops and Products*, 144, 111985. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111985>