



**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL NORDESTE  
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES Y AGRIMENSURA**

**Licenciatura en Ciencias Biológicas**

## **Trabajo Final de Graduación**

“Conservación de semillas de especies silvestres y cultivadas del género *Arachis*: evaluación de factores para determinar el método óptimo”

**María del Carmen Cubilla**

**Director:** LAVIA, Graciela Inés

**Co-director:** Pérez, María Laura

**Banco de Germoplasma de especies tropicales y Subtropicales BGCTES  
Instituto de Botánica del Nordeste (IBONE)**

**Año: 2023**

## **“Conservación de semillas de especies silvestres y cultivadas del género *Arachis*: evaluación de factores para determinar el método óptimo”**

### **RESUMEN**

Los bancos de germoplasma poseen colecciones muy diversas de recursos fitogenéticos, y su objetivo general es la conservación a largo plazo y la accesibilidad del germoplasma para los fitomejoradores, investigadores y otros usuarios. Los recursos fitogenéticos constituyen el material de partida para el mejoramiento de cultivos, y su conservación y uso es esencial para la seguridad alimentaria y nutricional mundial. Su conservación depende de una gestión eficaz y eficiente de los bancos de germoplasma mediante la aplicación de normas y procedimientos que aseguren la continua supervivencia y disponibilidad de los mismos. En este contexto, en el presente trabajo se realizaron ensayos utilizando diversos factores para determinar el método óptimo de conservación de semillas tanto de especies silvestres como cultivadas del género *Arachis*. En los ensayos se utilizaron 4 factores: *tiempo de conservación* (3, 6 y 9 meses), *temperatura* (5°C, -20°C y -80°C); *tipo de empaque* (sobre de papel y envasado al vacío en bolsas gofradas) y *presencia/ausencia de pericarpio*. Los cultivares de *A. hypogaea* fueron evaluadas mediante 12 combinaciones diferentes de los factores y en cada una se colocaron un total de 45 semillas. Cada tres meses se realizaron pruebas de germinación/viabilidad, utilizando para ello 15 semillas de cada combinación. En lo que respecta a las silvestres (*A. williamsii* y *A. trinitensis*), dado que la disponibilidad de semillas es menor, sólo se llevaron a cabo 4 ensayos: con dos temperaturas diferentes, -20°C y -80°C; con ausencia y presencia de pericarpio; y en sobres y al vacío, y pruebas de tetrazolio a los 3 y 9 meses. Como resultado, no fue posible determinar un tratamiento óptimo único para los cultivares de *A. hypogaea* y maníes silvestres, ya que dependen de la fisiología particular de cada material. Sin embargo, los ensayos realizados permitieron determinar que las semillas con pericarpio y empaquetadas al vacío presentan mejor comportamiento en las pruebas de viabilidad.

## **AGRADECIMIENTOS**

A Dios por darme las fuerzas para seguir adelante día a día. A mis padres Carmen y Roberto por darme la oportunidad de elegir estudiar una carrera y que, junto a mis hermanos me han brindado su apoyo incondicional en cada momento, dándome consejos para seguir adelante durante mi transcurso en la universidad.

Agradecer a la Dra. Graciela Lavia, mi directora de la tesina, por darme la oportunidad de aprender y por su tiempo durante la ejecución de este trabajo final de graduación, como así también a la Ing. Agr. María Laura Pérez, mi codirectora. Ambas excelentes profesionales y personas que no solo contribuyeron en la realización de este proyecto, sino que también, fueron parte de mi crecimiento, dándome consejos para seguir adelante como futura Licenciada en Biología.

A los jurados, por formar parte del Comité Evaluador del proyecto y por la dedicación en la revisión de la tesis. Además, agradecer con mucho respeto y gratitud a todos los docentes de la universidad por las lecciones y conocimientos que me brindaron durante mi formación como futura profesional. Así también a todo el personal del Instituto de Botánica del Nordeste y del Campo Experimental de FCA- UNNE por brindarme su apoyo y permitirme desarrollar este trabajo en sus instalaciones. Además, a la Ing. Agr. Constanza Cabrera por su amistad y ayuda desinteresada.

Y por último y no menos importante, a esas personas que la facultad me dio el gusto y la suerte de tenerlas brindándome su amistad, compañerismo, y apoyo incondicional, Marisa, Angi, Dahiana, Agustina, Federico y Ramon.

## ÍNDICE

|  |           |
|--|-----------|
| 1. INTRODUCCIÓN.....   | 1         |
| 2. OBJETIVOS GENERALES Y PARTICULARES.....   | 3         |
| 2.1. Objetivo general.....   | 3         |
| 2.2. Objetivos particulares.....   | 3         |
| 3. HIPÓTESIS DE TRABAJO .....  | 3         |
| 4. MATERIALES Y MÉTODOS.....   | 4         |
| 4.1. Materiales.....   | 4         |
| 4.2. Métodos.....  | 4         |
| 4.2.1. Cosecha de las especies cultivadas.....   | 4         |
| 4.2.2. Cosecha de las especies silvestres.....   | 4         |
| 4.2.3. Secado del fruto de las especies cultivadas.....                                  | 4         |
| 4.2.4. Secado del fruto de las especies silvestres.....                                  | 4         |
| 4.3. Determinación de la viabilidad de las semillas de las especies cultivadas.....      | 6         |
| 4.3.1. Ensayos de germinación.....   | 6         |
| 4.3.2. Prueba de viabilidad.....   | 7         |
| 4.3.3. Determinación de la Energía germinativa (EG) o vigor .....                        | 8         |
| 4.4. Determinación de la viabilidad de las especies silvestres.....                      | 9         |
| <i>Pretratamiento: pre-humedecido de las semillas.....</i>                               | <i>10</i> |
| <i>Tratamientos: Tinción con la sal de cloruro 2,3,5- trifeniltetrazolio.....</i>        | <i>10</i> |
| 4.5. Almacenamiento de las semillas.....   | 11        |
| 4.6. Diseño experimental.....  | 12        |
| 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....   | 12        |
| 5.1. Prueba de viabilidad Inicial.....   | 12        |
| 5.1.1. Cultivares de <i>A. hypogaea</i> .....  | 12        |
| 5.1.2. Maníes silvestres.....  | 13        |
| 5.2. Prueba de viabilidad posterior a los ensayos de almacenamiento de las semillas..... | 14        |
| 5.2.1. Cultivares de <i>A. hypogaea</i> .....  | 14        |
| 5.2.2. Maníes silvestres.....  | 14        |
| 5.3. Tiempo.....   | 16        |
| 5.3.1. Cultivares de <i>A. hypogaea</i> .....  | 16        |
| 5.3.2. Maníes silvestres.....  | 17        |
| 5.4. Temperatura.....  | 18        |
| 5.4.1. Cultivares de <i>A. hypogaea</i> .....  | 18        |
| 5.4.2. Especies silvestres.....  | 19        |
| 5.5. Empaquetado.....  | 19        |
| 5.5.1. Cultivares de <i>A. hypogaea</i> .....  | 20        |
| 5.5.2. Maníes silvestres.....  | 20        |
| 5.6. Presencia y ausencia de pericarpio.....   | 21        |
| 5.6.1. Cultivares de <i>A. hypogaea</i> .....  | 21        |
| 5.6.2. Maníes silvestres.....  | 22        |
| 5.7. Energía germinativa para las semillas de maní cultivado.....                        | 22        |
| 6. CONCLUSIONES.....   | 24        |
| 7. ANEXO.....  | 25        |
| 8. BIBLIOGRAFÍA.....   | 31        |

## 1. INTRODUCCIÓN

*Arachis* es un género nativo de América del sur y comprende 83 especies de plantas anuales, bienales y perennes (Krapovickas y Gregory 1994; Valls y Simpson 2005; Valls *et al.* 2013; Santana y Valls 2015; Valls y Simpson 2017; Seijo *et al.* 2021), las cuales han sido clasificadas en nueve secciones basadas en características morfológicas, cromosómicas, compatibilidad en los cruzamientos y fertilidad de los híbridos (Krapovickas y Gregory 1994). Su distribución se extiende desde la Cordillera de los Andes en Bolivia y el norte de Argentina hasta la costa atlántica en Brasil y desde las cabeceras de los ríos Mamoré y Guaporé en el norte de Bolivia y los ríos Tocantins en el centro de Brasil, hasta la costa norte del Río de la Plata en Uruguay (Robledo y Seijo 2010).

Dentro del género *Arachis* se incluye al maní cultivado clasificado por el botánico Linneo en 1753 como *Arachis hypogaea*, es una especie importante en la agricultura a nivel mundial, cuyas semillas presentan altos contenidos de proteínas, aceites, 50% de grasas insaturadas que ayudan a disminuir el colesterol y pueden ser consumidas libremente (Álava, 2012), minerales y vitaminas. El maní es la leguminosa de grano más extendida en el mundo, cultivada en 111 países de los trópicos y subtropicos, con una producción total aproximada de 49 millones de toneladas métricas en 2019 (FAOSTAT 2021). Los mayores productores del mundo de maní con cáscara son China, Nigeria, Sudán y USA, encontrándose Argentina en el 8vo. lugar con el 2,7% de la producción mundial (SISA 2020-2021).

En Argentina, el maní representa uno de los cultivos regionales típicos de nuestra agricultura concentrándose en el Centro-Sur de la provincia de Córdoba el 96 % de la producción primaria nacional y la totalidad del proceso industrial de la misma (Fernández y Giayetto 2017). El resto de la producción se localiza en las provincias de San Luis y La Pampa (5% y 3% de la producción nacional, respectivamente), y en menor proporción en Buenos Aires, Salta, Santa Fe y Jujuy (Campaña 2017/2018, Fuente: Datos Abiertos, Secretaría de Gobierno de Agroindustria). En la región NEA, la producción es a pequeña escala y es llevada a cabo con semillas de selección propia conservadas de generación en generación, con tecnologías de bajos insumos, con destino para autoconsumo y para el comercio local. Actualmente existe una gran diversidad de variedades locales que fueron resguardadas por las familias agricultoras constituyéndose en un área de conservación *in situ* de germoplasma de alto valor para la humanidad (Pérez *et al.* 2021).

En cuanto a las especies silvestres, algunas son utilizadas por su potencial forrajero en la producción animal, como es el caso de *A. pintoi*, ya que presentan una elevada calidad nutritiva y fijan simbióticamente el nitrógeno atmosférico junto a bacterias del género *Rhizobium* (Pérez y Pizarro 2006). Asimismo, el germoplasma de las especies silvestres es de suma importancia en programas de mejoramiento genético de los cultivares tradicionales, ya que presentan mayor variabilidad genética y caracteres agronómicos útiles para incorporar a *A. hypogaea* (Holbrook y Stalker 2003), por lo que los recursos fitogenéticos son valiosos y necesaria su conservación.

La estrategia actual de conservación de variabilidad comprende dos formas principales: conservación *in situ* y *ex situ*. En el caso de la *in situ*, según se trate de especies silvestres o cultivadas difiere la metodología. En las especies silvestres se identifican áreas ecológicas específicas y las instituciones especializadas mantienen el equilibrio ecológico con un mínimo de intervención del hombre;

en tanto que, con las cultivadas, se determinan chacras de familias agricultoras que realicen el cultivo mantenido por más de 40 años para definir las como variedad local (o, cuando los agricultores registran haber sembrado la misma semilla que sus padres u otros agricultores mayores). En cuanto a la conservación *ex situ*, consiste en almacenar semillas, plantas y/o tejidos *in vitro* en lugares adecuados, para mantener su variabilidad mediante regeneraciones sucesivas. Es decir, busca mantener el germoplasma fuera de sus ambientes originales, ya sea en forma de plantas, semillas, tubérculos o propágulos en sitios denominados bancos de germoplasma (Hong *et al.* 1998; Franco 2008). Asimismo, presenta ventajas con respecto a la conservación en el propio hábitat natural ya que, al concentrar todo el material genético y su información asociada se reducen los costos, mejora el control, y se facilita el suministro de material a todo tipo de usuario.

La conservación *ex situ* es el medio más utilizado para preservar los recursos fitogenéticos. La misma se lleva a cabo en instalaciones especializadas, las cuales están a cargo de instituciones públicas o privadas que actúan independientemente o en red junto con otras instituciones. Este tipo de conservación se lleva a cabo mediante la gestión de los *bancos de germoplasma*.

El material vegetal en los bancos de germoplasma es preservado en diferentes formas, principalmente como semillas, las cuales deben mantener su viabilidad y para ello se llevan a cabo las siguientes tareas: recolección del material, acondicionamiento del material, secado, almacenamiento, regeneración para mantener stock (Rao *et al.* 2007). La recolección del material se realiza en áreas de conocida diversidad genética o mediante donaciones de otros centros. Una vez obtenidas las muestras, las semillas se registran y se incorporan a la colección, siempre y cuando cumplan con los estándares requeridos de cantidad y calidad, y con la información de pasaporte asociada a ellas. Posteriormente, se debe limpiar, determinar el contenido de humedad, secar, evaluar la viabilidad y empacar para luego ser almacenadas en condiciones adecuadas. La regeneración se debe hacer en condiciones óptimas para mantener la integridad genética y maximizar la longevidad (FAO/IPGRI, 1994).

El almacenamiento en forma de semillas, por tratarse de un método práctico y económico, ha permitido conservar el 90% de los 7.4 millones de accesiones mantenidas en colecciones *ex situ* en todo el mundo (FAO 2011). Es, además, el principal método de conservación de las especies que producen semillas ortodoxas, es decir, que resisten la desecación a contenidos de humedad bajos y el almacenamiento a temperaturas muy bajas. La mayoría de las especies cultivables y forrajeras, y muchas especies arbóreas, producen este tipo de semilla. Las técnicas para conservar semillas ortodoxas a largo plazo se han perfeccionado durante varias décadas e incluyen el secado de las semillas hasta lograr un contenido de humedad bajo (3-7% de peso fresco, dependiendo de la especie) y el almacenamiento en recipientes herméticos, a bajas temperaturas (-20 °C y a -80 °C). Para la conservación a mediano plazo, menos de 10 años (colecciones activas), se recomienda la conservación de las semillas con un contenido de humedad del 7-8% y a una temperatura de almacenamiento comprendida entre 0°C y 10°C (Rao *et al.* 2007). Tanto la temperatura de conservación como el contenido de humedad de las semillas son los factores clave en la conservación de semillas a corto, mediano y largo plazo.

Desde la creación del Instituto de Botánica del Nordeste (IBONE) en el año 1977, en dicha institución se realiza la conservación de semillas y plantas vivas de especies de diversas familias de plantas. Entre

ellas, especies del género *Arachis*, que son utilizadas para el desarrollo de investigaciones científicas en diversas áreas (taxonomía, citogenética clásica y molecular, premejoramiento). El material conservado en el IBONE proviene de colecciones a campo realizadas por el personal de la institución o desde otras instituciones tanto nacionales (INTA-Manfredi) como extranjeras (Texas Experiment Agricultural Station, Stephenville, Texas, USA; Centro Nacional de Recursos Genéticos, Brasilia, Brasil), y es conservado como semillas o como plantas vivas en invernáculos.

La colección de semillas del IBONE del género *Arachis* actualmente es secada al aire el tiempo necesario para reducir su humedad al 7-9 % aproximadamente y se mantiene en equipos de refrigeración entre 0°C y 5°C. Dependiendo de la especie conservan su poder germinativo (PG) entre 5 a 10 años con un porcentaje de viabilidad muy bajo. Hasta el momento no se han realizado ensayos adecuados para determinar las condiciones ideales de conservación de estas semillas en nuestro banco.

En este contexto, en el presente trabajo final de graduación, se propone la realización de ensayos utilizando diversas variables (temperatura, presencia/ausencia de pericarpio y empaque) para determinar el método óptimo de conservación de semillas tanto de especies silvestres como cultivadas del género *Arachis*.

## **2. OBJETIVOS GENERALES Y PARTICULARES**

### **2.1. Objetivo General**

- Determinar el método de conservación *ex-situ* óptimo de semillas del género *Arachis* para la conservación a corto plazo de las especies de este género.

### **2.2. Objetivos Específicos**

Determinar para *A. hypogaea* L. y especies silvestres de *Arachis* (*A. trinitensis* y *A. williamsii*):

- La temperatura óptima de conservación de las semillas.
- La eficiencia del empaque al vacío vs. sobre de papel en la conservación de las semillas.
- La eficiencia de la conservación de semillas con pericarpio vs. sin pericarpio.

## **1. HIPÓTESIS DEL TRABAJO**

- Las semillas de las especies silvestres y cultivadas del género *Arachis*, durante su almacenamiento a una temperatura de conservación -80°C. y a corto plazo presentan una viabilidad alta.

-Entre las formas de empaquetado, las bolsas cerradas al vacío permiten una mayor eficiencia en la conservación de las semillas tanto de las razas cultivadas como en las especies silvestres.

- El almacenamiento a bajas temperaturas de las semillas con pericarpio de las especies cultivadas y las especies silvestres permiten mantener por mucho más tiempo una alta viabilidad.

## **4. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **4.1 Materiales**

En cuanto al material de *A. hypogaea* (maní cultivado) se utilizaron semillas de tres cultivares (C46, C47 y C48) provenientes de las chacras de familias agricultoras del Paraje Arenruguá en el Dpto. de General Paz (Corrientes), obtenidas en el marco de proyectos PDTS (PI18PD01) y UNNE en el medio (Res. 194/19- Res. 279/20- Res. 0430/22).

El criterio utilizado para la elección de las accesiones de semillas de maní cultivado fue semillas de diferentes tamaño y color.

Las semillas de las especies silvestres utilizadas en este trabajo provienen del Banco de Germoplasma BGCTES (IBONE-FCA UNNE). Para los ensayos se seleccionaron las especies de *A. trinitensis* y *A. williamsii* Krapov. & W.C. Gregory, WCI 1117, Universidad Técnica del Beni, Dep. Beni, Trinidad Bolivia.

El criterio utilizado para la elección de las especies silvestres fue la disponibilidad de semillas, ya que el promedio conservado por entrada del banco es de 20 semillas, lo cual es un número muy reducido para realizar este tipo de ensayos.

### **4.2. Métodos**

#### **4.2.1. Cosecha de las especies cultivadas**

La cosecha de las especies cultivadas de *A. hypogaea* se realizó en el Campo Didáctico Experimental perteneciente a la Facultad de Ciencias Agrarias (FCA-UNNE). La misma se llevó a cabo de manera manual, desenterrando las plantas y arrancando los frutos (Fig. 1). Los frutos extraídos fueron colocados dentro de bolsas de nylon, con sus respectivas etiquetas y llevados al IBONE donde se procedió al secado de los mismos.

#### **4.2.2. Cosecha de las especies silvestres**

La cosecha de las especies silvestres de *Arachis* (*A. trinitensis* y *A. williamsii*) se llevó a cabo en los invernáculos del IBONE ubicado en el Campus Sargento Cabral (UNNE) (Fig. 3a). Las mismas se encontraban en macetas y la cosecha se realizó pasando la tierra por un tamiz para retener los frutos.





**Figura 1.** Cosecha de los frutos de *A. hypogaea* en el campo experimental FCA-UNNE.

#### 4.2.3. Secado de los frutos de las especies cultivadas

Para proceder al secado de los frutos, se colocaron los mismos en cestos de plásticos con una red de media sombra en la base (Fig. 2a) y luego puestos al sol durante el día por una semana aproximadamente. Para calcular la diferencia de peso fresco y obtener un porcentaje de humedad de 3-7 % propuesto por Rao *et al.* (2007), se colocaron 100 gr. de frutos en sobres de papel y se pesaron en una balanza de precisión (Fig. 2b, c y d), hasta alcanzar el contenido de humedad deseado para el posterior almacenamiento. El contenido de humedad de las semillas se midió mediante la siguiente fórmula:

$$\text{CHS (\%)} = \frac{\text{Pesos fresco} - \text{pesos seco}}{\text{peso fresco}} \times 100$$



**Figura 2.** Secado de frutos de *A. hypogaea*. **a-** frutos colocados en cestos de plásticos luego de la cosecha. **b-** Balanza de precisión utilizada para controlar el peso fresco de las semillas. **c y d-** semillas en sobres de papel para su posterior secado.

#### 4.2.4. Secado de los frutos de las especies silvestres

Los frutos se secaron por medio de una secadora casera (gentileza de la cátedra de Forrajicultura, FCA-UNNE), armada en un armario con puertas en cuya parte inferior se colocaron dos velas emitiendo calor y un ventilador en la parte superior que al encender permite que el aire circule en sentido ascendente, es decir desde abajo hacia arriba; en tanto que en distintos niveles del armario se colocan sobres de papel con semillas en estantes que permiten la circulación del aire (Fig. 3b). La temperatura de secado fue constante (controlada por un termostato) a 32°C +- 3°C. Este secado se realizó durante 5 días.



**Figura 3.** a- Colección de maníes silvestres en el invernáculo del IBONE. b y c- Secadora utilizada para el secado de frutos de maníes silvestres.

#### 4.3. Determinación de la viabilidad de semillas de las especies cultivadas

Para determinar la viabilidad de las semillas de *A. hypogaea* se llevaron a cabo ensayos de germinación, los cuales fueron realizados antes y después del almacenamiento de las mismas.

##### 4.3.1. Ensayos de germinación

Para la evaluación de la germinación, se utilizaron bandejas plásticas con algodón y papel secante en la base. Las bandejas fueron previamente esterilizadas con alcohol y sometidas luego a flujo laminar con luz UV durante 10 min para desinfectarlas completamente. En cuanto al papel secante y al algodón se envolvieron en papel de aluminio y se esterilizaron en autoclave. Posterior a la esterilización, los germinadores fueron humedecidos con agua destilada estéril y se utilizó el fungicida Captan (fórmula: C<sub>9</sub>H<sub>8</sub>Cl<sub>3</sub>NO<sub>2</sub>S) en una proporción 2 gr/L para evitar el crecimiento de hongos. En cada bandeja se colocaron 5 semillas de cada cultivar (C46, C47 y C48) y se realizaron 3 repeticiones (R1, R2 y R3) para cada cultivar (un total de 15 semillas). Previa a la colocación en cada uno de los germinadores, las semillas fueron colocadas en agua caliente a 70°C durante 5 min. Los germinadores se incubaron en estufa entre 27°C y 30°C en oscuridad y se mantuvieron húmedas con agua y fungicida Captan día por medio (Fig. 4 a, d y c).

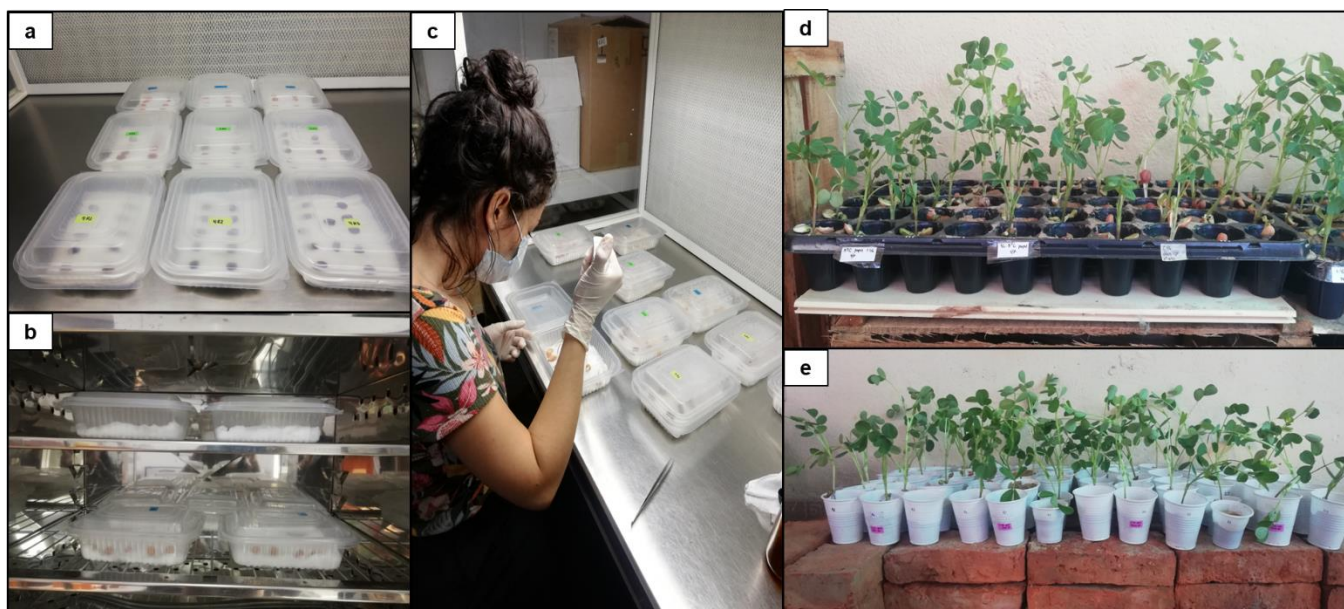


#### 4.3.2. Prueba de Viabilidad

Para determinar el porcentaje de semillas germinadas se realizó un conteo inicial de las mismas a los 5 días de la siembra y un conteo final a los 10 días. (según protocolo de ISTA, 2016). Las semillas se consideraban como germinadas cuando las radículas presentaban una longitud aproximadamente de 3 mm, como indica Rodríguez *et al.* (2008), las semillas que no alcanzaban esta longitud se consideraban semillas sin germinar (%SSG). El porcentaje de semillas germinadas se determinó a través del cálculo del Poder Germinativo (PG), el mismo se representa mediante la siguiente fórmula:

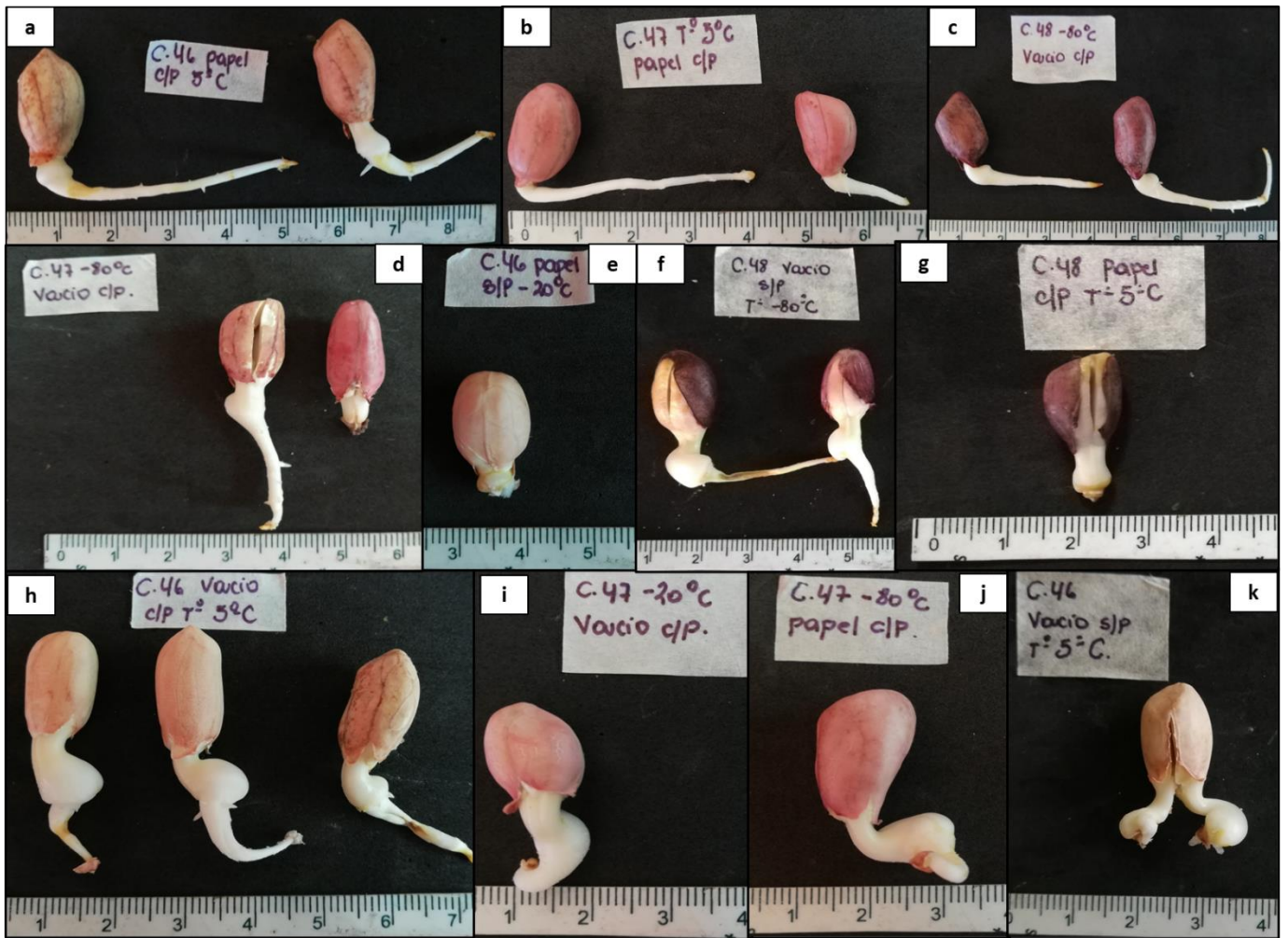
$$PG = (\text{Semillas germinadas}) / (\text{Total de semillas puestas a germinar}) \times 100$$

Una vez determinada la viabilidad se procedió a medir características de las plántulas que indicaban si las mismas eran normales o anormales siguiendo los criterios establecidos por las normas ISTA (2016). Estos datos se expresaron como porcentaje de plántulas normales (%PN) y anormales (%PA). Para ello, después del segundo conteo del poder germinativo, fueron trasplantadas en bandejas semilleras y en vasitos de plástico, los cuales contenían arena esterilizada previamente en autoclave (Fig. 4 d y e).



**Figura 4.** Determinación de la viabilidad de las semillas de *A. hypogaea*. **a-** Germinadores con las semillas cultivadas, con base de algodón y papel secante. **b-** Germinadores puesto en estufa a una temperatura de 27 a 30°C. **c-** Regado de los germinadores. **d y e-** Bandejas y vasitos de plásticos con plántulas de *A. hypogaea*.

Para la determinación del PG, se consideraron semillas con germinación normal a las que entre los 5 y 10 días presentaban radículas largas y delgadas de 3 a 5 cm (Figs. 5 a, b y c), anormales, a las que presentaron raíces atrofiadas, necróticas y con los cotiledones separados, decolorados y necróticos (Figs. 5 d, e, f y g), hipocótilos gruesos y con forma de bucle (Figs. 5 h, i y j). Raíces e hipocótilo con los extremos divididos (Fig. 5 k), En cuanto a las semillas sin germinar, fueron consideradas como semillas frescas, las que no han producido la emergencia de la radícula, pero han absorbido agua, a diferencia de lo que ocurre con una semilla muerta que generalmente se pudren por la presencia de microorganismos (Fig. 6).



**Figura 5.** Semillas con germinación normal y anormal de *A. hypogaea*. **a, b y c-** raíces normales con radículas largas y delgadas. **d, e, f y g-** raíces atrofiadas, necróticas y con los cotiledones separados, decolorados y necróticos. **h, i y j -** hipocótilos gruesos, cortos y formando un doblez. **k-** hipocótilo y raíz dividida en las puntas.

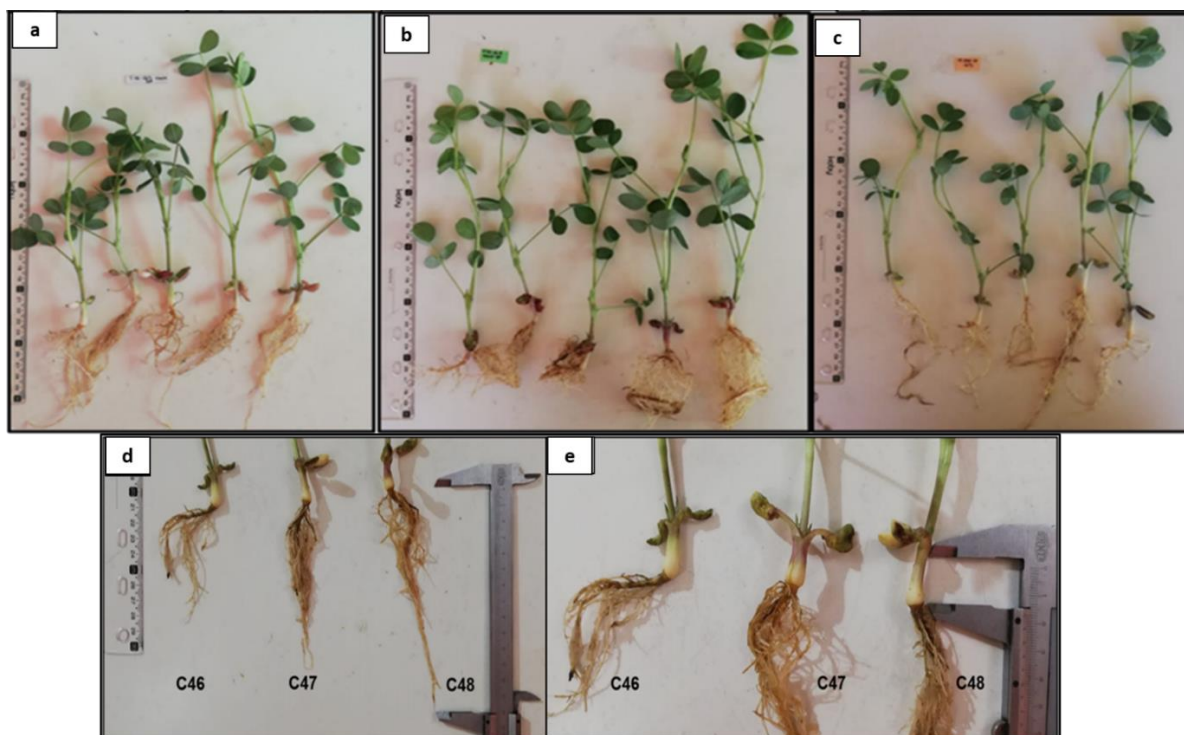


**Figura 6.** Semillas frescas de los tres cultivares de *A. hypogaea*. **a-** C46. **b-** C47. **c-** C48

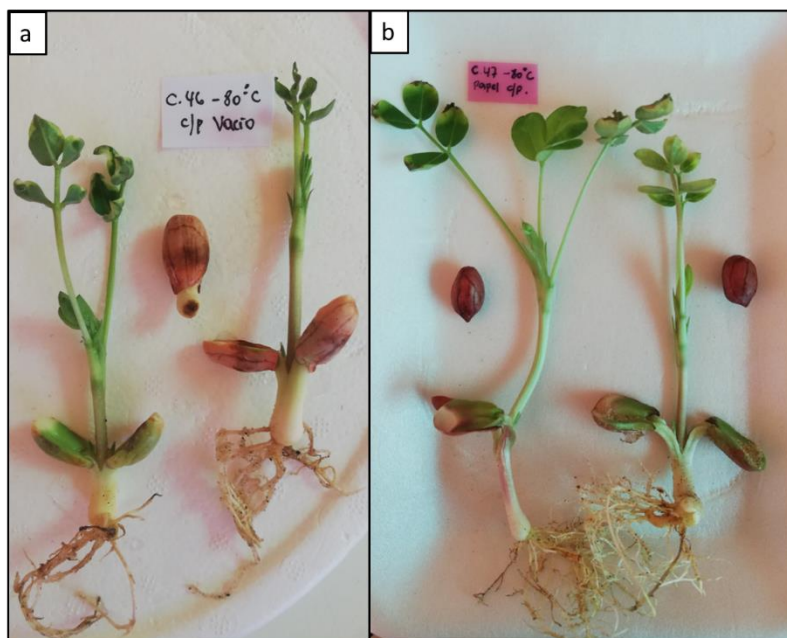
Para determinar si las plántulas eran normales o anormales, se observaron las mismas a partir del día 20. Se consideraron plántulas normales a las que presentaban aproximadamente 30 cm de longitud, con raíces de 10 a 15 cm de largo (Figs. 7 a, b, c y Fig. 7d a), hipocótilo alargado y recto de 1,5 a 2 cm (Fig. 7 e), hojas tetrafoliadas color verde oscuro y cotiledones ovalados y verdes. Se consideraron plántulas



anormales a las que, presentaban los márgenes foliares con una coloración amarillenta, deformada y no expandida totalmente (Figs. 8 a y b).



**Figura 7.** a, b y c- Plántulas normales en los tres cultivares (C46, C47 y C48) de *A. hypogaea*. d- Raíces largas y delgadas de 10 a 15 cm de longitud y e- hipocótilo recto de 2 a 3 cm de longitud.



**Figura 8.** a y b- Plántulas anormales de *A. hypogaea* con hojas deformadas y con coloración amarilla en sus márgenes.

#### 4.3.3. Determinación de la Energía germinativa (EG) o vigor

Durante el primer conteo de poder germinativo, se llevó a cabo el análisis de energía germinativa, para establecer los días que tardan en germinar el 60% de las semillas y junto a ello el vigor de las mismas. Este valor está expresado en días.

#### 4.4. Determinación de la viabilidad de semillas de las especies silvestres

De acuerdo a la baja disponibilidad de semillas de las especies silvestres del género *Arachis* (*A. williamsii* y *A. trinitensis*), se llevó a cabo la prueba de viabilidad mediante el Ensayo Topográfico de Tetrazolio. Estas pruebas se realizaron antes y después del almacenamiento.

Para facilitar la penetración de la solución de tetrazolio se llevaron a cabo los siguientes pasos:

*Pretratamiento: pre- humedecido de las semillas*

Se colocaron 8 semillas de *A. williamsii* y 10 semillas de *A. trinitensis* en agua durante 18 horas a 20°C. Las semillas embebidas en general son menos frágiles que las semillas secas y pueden manipularse sin que se quiebren. Además, la tinción de las semillas pre humedecidas es más uniforme en color y esto facilita la evaluación (ISTA 2016).

*Tratamiento: tinción con la sal cloruro de 2,3,5 trifeniltetrazolio*




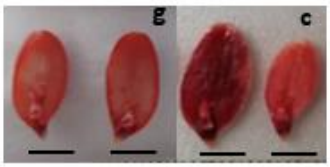

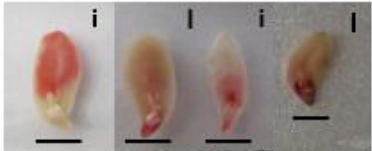
Posteriormente al pretratamiento, se quitó a cada semilla el tegumento en forma manual, utilizando pinzas y agujas histológicas, separando luego los cotiledones (Fig. 9a). Los cotiledones que tenían adherido el eje embrionario se sumergieron en la solución de Tetrazolio al 1 % a 30°C (Fig. 9b) durante 6 hs en oscuridad, ya que, al encontrarse expuesta a la luz directa, la solución de tetrazolio se reduce. Posteriormente, se enjuagaron las semillas con agua corriente durante 3 min para eliminar los restos de la solución, y finalmente se analizó la localización e intensidad de las zonas teñidas en los tejidos seminales (Fig. 9 c y d).



**Figura 9.** Determinación de la viabilidad de las semillas de *Arachis* silvestres mediante el test de Tetrazolio. **a-** Cotiledones de *A. trinitensis* separados luego de pasar por el pretratamiento en agua. **b-** semillas embebidas en solución de tetrazolio. **c** y **d-** visualización de los resultados de la prueba de viabilidad.

La determinación de las diferentes categorías de viabilidad se realizó de acuerdo al criterio propuesto por Pérez y Arguello (1997) para *A. hypogaea*. Dicho criterio considera semillas **viabiles de alto vigor** a

aquellas que presentan los embriones completamente teñidos, el extremo de la radícula rojo intenso, y los cotiledones con áreas teñidas en forma irregular y pequeñas superficies sin teñir. Las semillas de **bajo vigor** son aquellas con el extremo de la radícula sin teñir (mayor a 2 mm), con más del 50% de la superficie del cotiledón sin teñir y áreas del cotiledón que rodean al eje embrionario de color blanco o rojo. Las semillas **no viables**, se caracterizan por tener el eje embrionario blanco, blanco amarillento o marrón y los cotiledones blancos o irregularmente teñidos (Fig. 10).

| Viabilidad                | Categoría de tinción según Pérez y Arguello (1997)                                  | Categorías de tinción para la presente tesina  |
|---------------------------|---|--|
| Viabiles y vigorosas      |    |   |
| Viabiles y poco vigorosas |   |   |
| No viables                |  |  |

**Figura 10.** Categorías de tinción propuestas por Pérez y Arguello (1997) para maní cultivado y las obtenidas en la presente tesina para maníes silvestres (*A. trinitensis* y *A. williamsii*)

**Descripciones:** **viabiles vigorosas a-** Embrión totalmente teñido. **b-** Áreas irregulares y superficiales sin teñir al nivel de los cotiledones (1%) y Extremo de la radícula rojo intenso. **Viabiles poco vigorosas c-** Extremo de la radícula sin teñir o (> 2 mm). **d** Más del 50% del cotiledón sin teñir o porción distal del cotiledón sin teñir. **e, f y g-** Área del cotiledón blanca o rojo circundante al eje, < 50% del cotiledón. **No viables h, i-** Eje embrionario blanco, cotiledón sin teñir o teñido irregularmente. **J, k-** Eje embrionario blanco, área central del cotiledón sin teñir. **I, m-** Embrión totalmente blanco, marrón o blanco amarillento.

#### 4.5. Almacenamiento de las semillas de las especies cultivadas y silvestres del género *Arachis*

Luego de realizados los análisis de viabilidad de las semillas silvestres y cultivadas de *Arachis*, se procedió al almacenamiento de las mismas:

El almacenamiento de las semillas de *A. hypogaea* se realizó a 3 temperaturas distintas: 5°C, -20°C y -80°C; sin embargo, para *A. trinitensis* y *A. williamsii* (por la disponibilidad de semillas) se llevó a cabo a -20°C y -80°C. Tanto para la especie cultivada como para las silvestres, el empaquetado se efectuó en dos tipos de envases: sobres de papel y al vacío en bolsas gofradas selladas. Para determinar si el pericarpio tiene algún efecto sobre la conservación de las semillas, se almacenaron semillas con pericarpio y sin pericarpio. En cada uno de los envases se colocaron un total de 15 semillas para los tres cultivares de *A. hypogaea* (C46, C47 y C48), 6 semillas para *A. trinitensis* y 5 semillas para *A. williamsii*. Las especies cultivadas fueron almacenadas durante 3, 6 y 9 meses y las especies silvestres durante los 3 y 9 meses. Cada uno de los envases contenía una etiqueta con los siguientes datos:

Especie cultivada (*A. hypogaea*):

- N° de cultivar (C46, C47 o C48).
- Temperatura del almacenamiento.
- Fecha de almacenamiento.

Especies silvestres (*A. trinitensis* y *A. williamsii*):

- Nombre de la especie.
- Temperatura de almacenamiento.
- Fecha de almacenamiento.

Posteriormente, cada 3, 6 y 9 meses para las especies cultivadas y cada 3 y 9 meses para las especies silvestres, se realizaron pruebas de viabilidad para conocer el método óptimo de almacenamiento.

#### 4.6. Diseño experimental

El diseño experimental fue totalmente al azar, los datos obtenidos fueron volcados a una tabla Excel y sometidos al análisis estadístico de la varianza no paramétrica o prueba de Kruskal-Wallis a un nivel de significancia del 5% a través del software Infostat (2020).

### 5. Resultados y Discusión

#### 5.1. Prueba de viabilidad inicial

##### 5.1.1. Cultivares de *A. hypogaea*

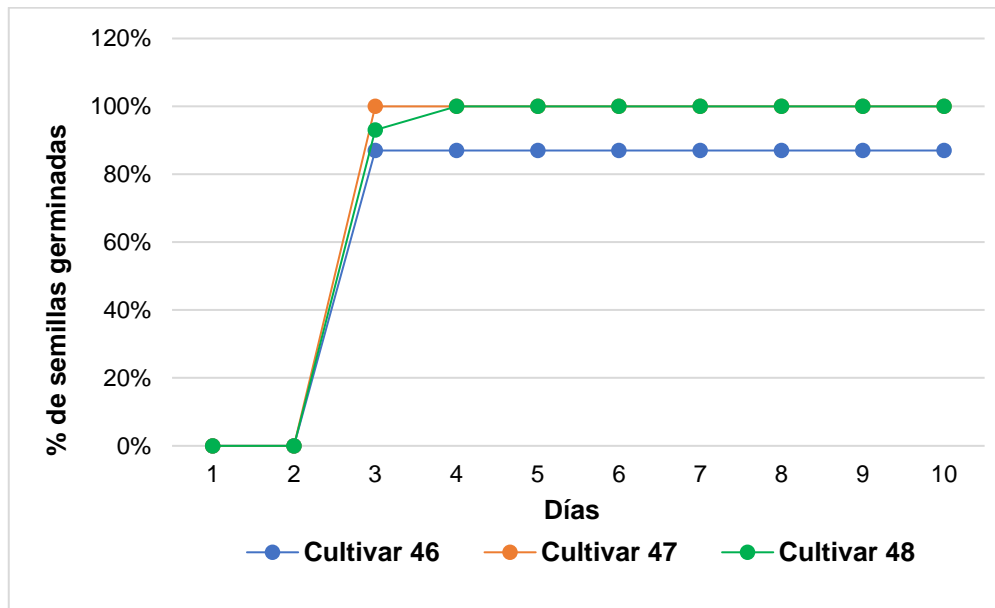
Se obtuvieron valores de plántulas normales (PN) mayores al 87%, siendo el C47 el de mayor valor (93%). Sólo en los C47 y C48 se obtuvieron plántulas anormales (PA), 7 y 13 % respectivamente, mientras que el C46 obtuvo un 13% de semillas sin germinar (SSG) (Tabla 1). En maníes cultivados de Bolivia se determinó una capacidad de germinación mayor al 85 %, lo que coincide con lo obtenido en este trabajo (Pérez y García, 2015).

**Tabla 1.** Plántulas normales (PN), plántulas anormales (PA) y semillas sin germinar (SSG) obtenidos antes del almacenamiento de C46, C47 y C48 de *A. hypogaea*. Letras iguales indican que no se presentaron diferencias significativas para  $p > 0,05$ .

| Cultivar | PN           | PA           | SSG          |
|----------|--------------|--------------|--------------|
| C46      | 87% ± 0,00 a | 0%± 0,00 a   | 13% ± 0,00 a |
| C47      | 93% ± 0,00 a | 7% ± 0,00 a  | 0%± 0,00 a   |
| C48      | 87%± 0,00 a  | 13% ± 0,00 a | 0 %± 0,00 a  |

En cuanto a la energía germinativa, en los tres cultivares se alcanzó el 60 % de las semillas germinadas al tercer día de la puesta a germinar (Fig. 11), evidenciando la alta viabilidad de las semillas y la velocidad de poder germinativo de las mismas antes de su almacenamiento. La EG es un parámetro muy útil porque nos da idea de la cantidad de semillas que rápidamente emergerán en el campo, minimizando las pérdidas de semillas por depredadores y patógenos (Borrajo, 2006).

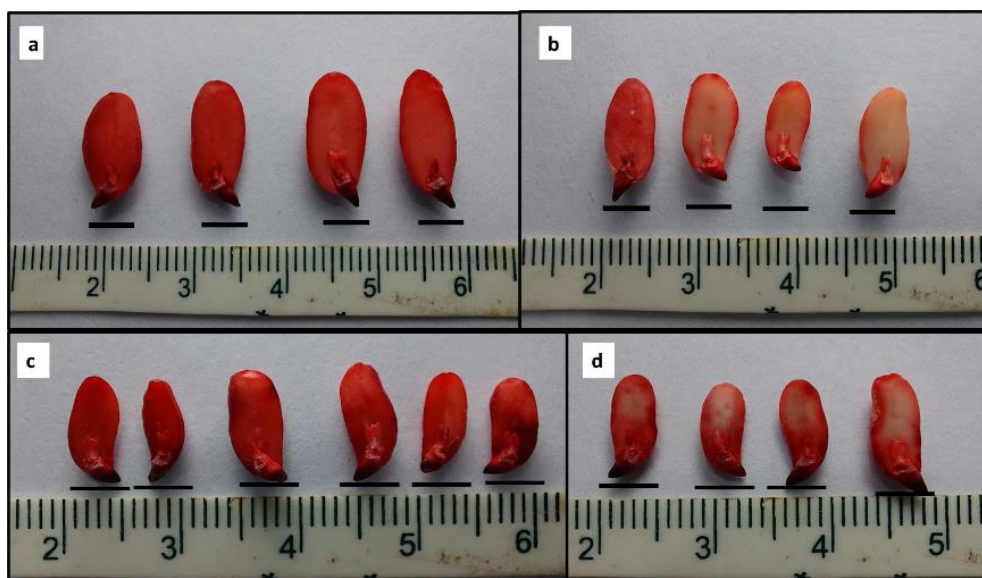




**Figura 11:** Energía germinativa para los tres cultivares (C46, C47 y C48) de *A. hypogaea* antes del almacenamiento.

### 5.1.2. Maníes Silvestres

La viabilidad por tetrazolio para ambas especies silvestres (*A. williamsii* y *A. trinitensis*) mostró 100% de semillas viables (Fig. 12). No existen datos previos en los que se hayan utilizado la prueba de tetrazolio en especies silvestres de *Arachis*, sin embargo, Pérez y Arguello (1997) realizaron esta prueba en maní cultivado y obtuvieron porcentajes entre 60-89% de viabilidad.



**Figura 12.** Semillas viables y vigorosas de maníes silvestres. **a-** semillas de *A. williamsii* con el embrión totalmente teñido al igual que los cotiledones. **b-** semillas de *A. williamsii* con áreas irregulares y superficiales sin teñir al nivel de los cotiledones (1%) y extremo de la radícula rojo intenso. **c-** semillas de *A. trinitensis* con el embrión totalmente teñido al igual que los cotiledones. **d-** semillas de *A. trinitensis* con áreas irregulares y superficiales sin teñir al nivel de los cotiledones (1%) y extremo de la radícula rojo intenso.

## **5.2. Prueba de viabilidad posterior a los ensayos de almacenamiento de las semillas**

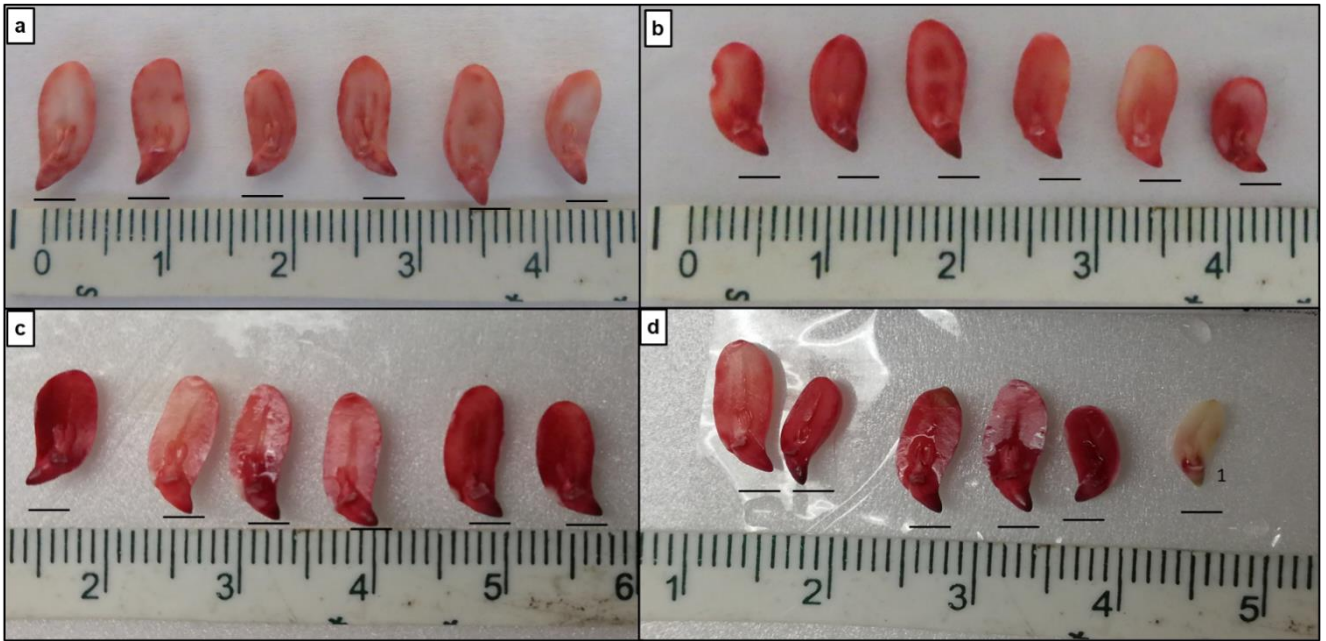
### **5.2.1. Cultivares de *A. hypogaea***

Para los ensayos de maní cultivado el análisis estadístico de Kruskal-Wallis, teniendo en cuenta los 4 factores combinados: tiempo (T), temperatura (t), empaquetado (E), presencia/ausencia de pericarpio (P/A pericarpio), no presentó diferencias significativas para PN, sólo presentó diferencias significativas entre tratamientos de PA (dos tratamientos) y en SSG (cuatro tratamientos). Sin embargo, estos resultados no nos permiten establecer una combinación de factores óptimos para la conservación (Anexo: Tabla A1 y Tabla A2)

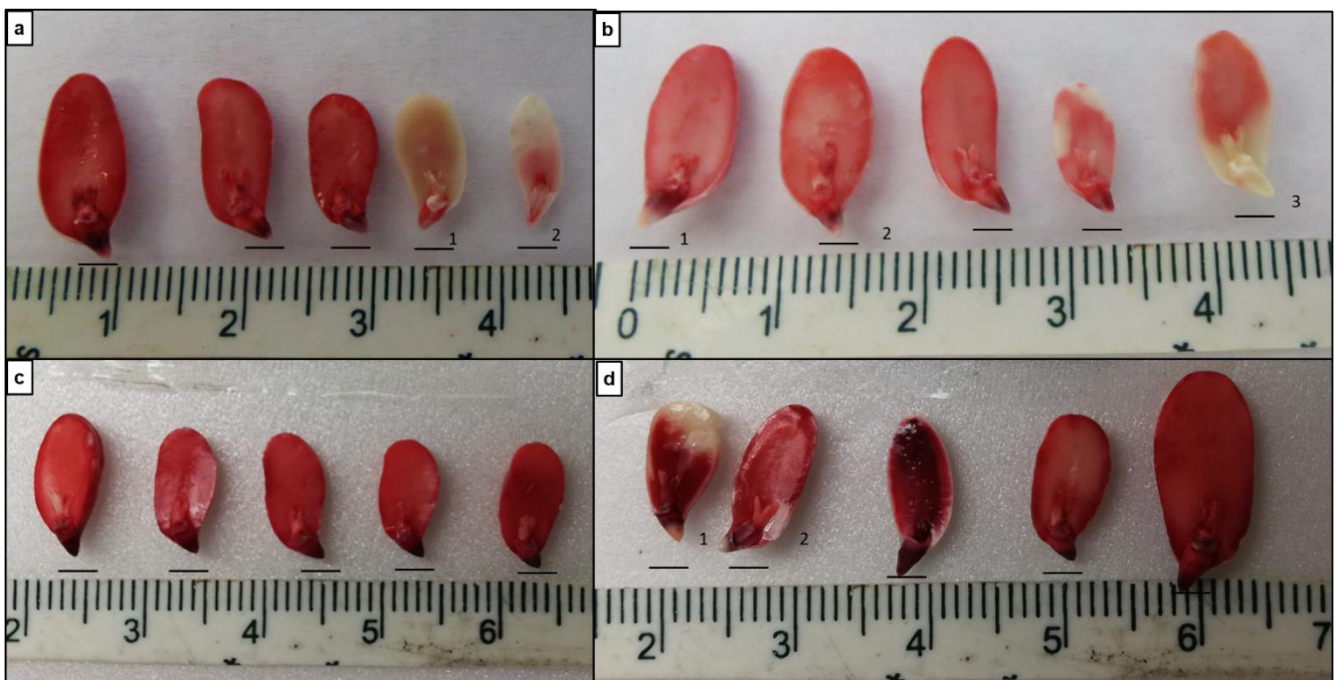
Los análisis de los factores combinándose de a dos (6 combinaciones: T-t, T-E, T-P/A pericarpio, t-E, t-P/A pericarpio y E-P/A pericarpio), tampoco mostraron diferencias significativas excepto las combinaciones en las que se consideraba el factor tiempo (Anexo: Tabla A3, Tabla A4, Tabla A5, Tabla A6, Tabla A7 y Tabla A8). Para confirmar que el factor tiempo es el que influye significativamente en la conservación, se realizó el análisis estadístico de los factores individualmente y ninguno, excepto el factor tiempo presentó diferencias significativas.

### **5.2.2. Maníes Silvestres**

Para el caso de las semillas de maníes silvestre el análisis estadístico de Kruskal-Wallis, teniendo en cuenta los 4 factores: tiempo (T), temperatura (t), empaquetado (E), presencia/ausencia de pericarpio (P/A pericarpio), no presentó diferencias significativas entre tratamientos (Anexo: Tabla A9 y Tabla A10). El análisis de los factores combinándose de a dos (6 combinaciones: T-t, T-E, T-P/A pericarpio, t-E, t-P/A pericarpio y E-P/A pericarpio), e individualmente tampoco presentó diferencias significativas (Fig. 13 y Fig. 14).



**Figura 13.** **a**-Semillas viables vigorosas de *A. trinitensis* almacenadas a una temperatura de  $-20^{\circ}\text{C}$ , empaque papel y sin pericarpio luego de 3 meses. **b**-Semillas viables vigorosas de *A. trinitensis* almacenados a una temperatura de  $-80^{\circ}\text{C}$ , empaque papel y sin pericarpio luego de 3 meses. **c**-Semillas viables vigorosas de *A. trinitensis* almacenadas a una temperatura de  $-80^{\circ}\text{C}$ , empaque al vacío y con pericarpio luego de 9 meses. **d**-Semillas viables vigorosas y **d1**- no viables de *A. trinitensis* almacenadas a una temperatura de  $-20^{\circ}\text{C}$ , empaque papel con pericarpio luego de 9 meses.



**Figura 14.** **a.** Semillas viables vigorosas y **a1**, **a2** no viables de *A. williamsii* almacenadas a una temperatura de  $-20^{\circ}\text{C}$ , empaque al vacío y con pericarpio luego de 3 meses. **b**-Semillas viables vigorosas, **b1** y **b2** viables poco vigorosas y **b3** no viables de *A. williamsii* almacenadas a una temperatura de  $-80^{\circ}\text{C}$ , empaque papel con pericarpio luego de 3 meses de almacenamiento. **c**- Semillas viables vigorosas de *A. williamsii* almacenadas a una temperatura de  $-20^{\circ}\text{C}$ , empaque papel sin pericarpio luego de 9 meses. **d**- Semillas viables vigorosas y **d1** y **d2** viables poco vigorosas de *A. williamsii* almacenadas a una temperatura de  $-80^{\circ}\text{C}$ , empaque vacío con pericarpio luego de 9 meses.

A continuación, se presentan los factores analizados en forma separada en *A. hypogaea* y maníes silvestres.

### 5.3. Tiempo

#### 5.3.1. Cultivares de *A. hypogaea*

El análisis estadístico de Kruskal-Wallis para cada cultivar respecto al tiempo de conservación mostró diferencias significativas. Respecto al cultivar C46 y C48 los valores más bajos de PN se obtuvieron a los 6 meses (68 y 44% respectivamente), obteniéndose los valores más altos a los 3 y 9 meses (83 y 86% y 63 y 52% respectivamente). Contrariamente de lo que se obtuvo para C47, el cual presentó el valor más alto de PN a los 6 meses (73%) y los valores más bajos a los 3 y 9 meses (63-61%) (Tabla 2). Esto puede deberse a que los contenidos de humedad de las semillas entre los cultivares hayan sido variables debido a sus diferentes tamaños, ya que, si bien todos los frutos fueron sometidos al mismo proceso de secado, el tamaño de las semillas es diferente entre cultivares.

**Tabla 2.** Plántulas normales (PN), plántulas anormales (PA) y de semillas sin germinar (SSG), de acuerdo al tiempo de conservación en los tres cultivares de *A. hypogaea*. Se muestra el error estándar ( $\pm$ ) para cada porcentaje. Letras en común (a, b) para cada tiempo son significativamente iguales ( $p > 0,05$ ). La letra m corresponde a meses. En gris claro se presentan los valores iniciales para una mejor comparación.

| Cultivar | Tiempo  | PN                | PA                | SSG              |
|----------|---------|-------------------|-------------------|------------------|
| C46      | Inicial | 87%               | 0%                | 13%              |
|          | 3m      | 83% $\pm$ 0,17 b  | 16% $\pm$ 0,16 ab | 1% $\pm$ 0,03 a  |
|          | 6m      | 68% $\pm$ 0,15 a  | 23% $\pm$ 0,18 b  | 8% $\pm$ 0,14 b  |
|          | 9m      | 86% $\pm$ 0,16 b  | 13% $\pm$ 0,15 a  | 1% $\pm$ 0,05 ab |
| C47      | Inicial | 93%               | 7%                | 0%               |
|          | 3m      | 63% $\pm$ 0,22 a  | 37% $\pm$ 0,22 b  | 0% $\pm$ 0,00 a  |
|          | 6m      | 73% $\pm$ 0,17 b  | 8% $\pm$ 0,13 a   | 19% $\pm$ 0,09 b |
|          | 9m      | 61% $\pm$ 0,22 a  | 12% $\pm$ 0,16 a  | 29% $\pm$ 0,21 b |
| C48      | Inicial | 87%               | 13%               | 0%               |
|          | 3m      | 63% $\pm$ 0,22 b  | 26% $\pm$ 0,17 b  | 11% $\pm$ 0,13 a |
|          | 6m      | 44% $\pm$ 0,28 a  | 22% $\pm$ 0,24 ab | 34% $\pm$ 0,16 b |
|          | 9m      | 52% $\pm$ 0,21 ab | 14% $\pm$ 0,16 a  | 34% $\pm$ 0,21 b |

Al observar los valores de PA y SSG en cada cultivar podemos ver que el tiempo en C46 afectó más la producción de PA (13-23%) que a la germinación de semillas (SSG 1-8%), y en los C47 y C48 la producción de PN estuvo afectada tanto por el aumento de los valores de PA como así también de SSG. La producción de PA puede deberse a los daños mecánicos producidos por la manipulación de las semillas durante el trasplante hacia las bandejas de germinación. Cerolini *et al.* (2015) establece que las semillas de maní son

más susceptibles al daño que las de otras especies, porque tienen un tegumento muy delgado y la radícula expuesta, lo que las hace más vulnerables durante la manipulación.

La variabilidad de los valores de PN obtenidos para los distintos meses de almacenamiento en cada cultivar estudiado, no nos permite establecer de manera general el tiempo óptimo para la conservación de semillas. Sin embargo, teniendo en cuenta los resultados obtenidos en los análisis iniciales de viabilidad, nos permite determinar que para el C46 la pérdida de viabilidad luego de los 9 meses de almacenamiento varía en un 1-19%, para el C47 de un 20-32% y para el C48 de un 24-43%. Se ha estudiado en maní cultivado que la dormancia de semillas varía entre distintas variedades comerciales (español, virginia y valencia) y que la misma puede tener tanto un origen genético (a nivel de tegumento, cotiledón o embrión) como inducido (estrés hídrico o exceso de nutrientes) (Bandyopadhyay *et al.*, 1999, Fernández 1996, Fernández y Tomaselli, 2006). La variabilidad en los valores hallados en este trabajo podría explicarse, en parte, por diferentes niveles de dormancia.

### 5.3.2. Maníes silvestres

El análisis estadístico de Kruskal-Wallis para las dos especies silvestres respecto al tiempo de conservación no mostró diferencias significativas. Los valores de semillas viables para *A. williamsii* y *A. trinitensis* respecto a los valores de viabilidad inicial mostraron una disminución de un 2-10 %, siendo *A. williamsii* la que mayor viabilidad pierde en el tiempo (5-10%) (Tabla 3). Esto nos permite determinar que la pérdida de viabilidad a los 9 meses de conservación para las especies silvestres es en general menor que las especies cultivadas. Sin embargo, como lo destaca Cardozo *et al.* (1997) la determinación de la viabilidad por esta técnica no resulta suficiente para valorar la calidad de la semilla por lo que se propone un análisis integral de los distintos componentes de la prueba de germinación.

**Tabla 3.** Semillas viables y no viables de las especies silvestres *A. williamsii* y *A. trinitensis* en función del tiempo de almacenamiento. Se muestra el error estándar ( $\pm$ ) para cada porcentaje. Letra a en común para cada tiempo no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ ).

| Especie               | Tiempo | S. viables        | S. no viables    |
|-----------------------|--------|-------------------|------------------|
| <i>A. williamsii</i>  | 3 m    | 90% $\pm$ 0,15 a  | 10% $\pm$ 0,15 a |
|                       | 9 m    | 95% $\pm$ 0,09 a  | 5% $\pm$ 0,09 a  |
| <i>A. trinitensis</i> | 3 m    | 98% $\pm$ 0,07 a  | 2% $\pm$ 0,07 a  |
|                       | 9 m    | 100% $\pm$ 0,00 a | 0% $\pm$ 0,00 a  |

Si bien en este trabajo sólo se evaluó la conservación a corto plazo, en estudios realizados con semillas de leguminosas forrajeras (*Coursetia glandulosa*) se determinó que las mismas perdían su viabilidad en el tiempo a partir del segundo y tercer año de almacenamiento, llegando a ser total luego de este período (Sánchez Arellano *et al.* 2011). Esta pérdida en el tiempo puede ocurrir, aunque las condiciones de almacenamiento sean adecuadas, resultando en una pérdida de material genético valioso (Standwood 1985). Por esta razón es que se aconseja que se renueven las semillas conservadas en los diferentes bancos de germoplasma para evitar la pérdida de recursos genéticos (FAO 1994).

## 5.4. Temperatura

### 5.4.1. Cultivares de *A. hypogaea*

El análisis estadístico para cada cultivar respecto a la temperatura de conservación no mostró diferencias significativas. Sin embargo, podemos observar que los valores de PN obtenidos para C46 y C47 presentaron diferencias menores a 4% entre las distintas. En el caso del C48 se puede observar una diferencia mayor de los valores de PN entre las distintas temperaturas (42-61%) siendo la temperatura de -80°C la que menor valor de PN presentó (42%). Al observar los valores de PA y SSG en cada cultivar podemos ver que la temperatura afectó de manera similar a los tres cultivares en la producción de PA (16-26%), en cambio en los valores de SSG fueron afectados mayormente en los C47 y C48 (SSG 14-32%) (Tabla 4).

**Tabla 4.** Plántulas normales (PN), plántulas anormales (PA) y de semillas sin germinar (SSG), de acuerdo a la temperatura de almacenamiento en los tres cultivares de *A. hypogaea*. Se muestra el error estándar ( $\pm$ ) para cada porcentaje. Letra a en común para cada temperatura no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ ). En gris claro se presentan los valores iniciales para una mejor comparación.

| Cultivar   | Temperatura | PN               | PA               | SSG              |
|------------|-------------|------------------|------------------|------------------|
| <b>C46</b> | Inicial     | 87%              | 0%               | 13%              |
|            | 5°C         | 78% $\pm$ 0,16 a | 16% $\pm$ 0,16 a | 6% $\pm$ 0,11 a  |
|            | -20°C       | 79% $\pm$ 0,18 a | 18% $\pm$ 0,18 a | 3% $\pm$ 0,10 a  |
|            | -80°C       | 80% $\pm$ 0,20 a | 18% $\pm$ 0,17 a | 2% $\pm$ 0,06 a  |
| <b>C47</b> | Inicial     | 93%              | 7%               | 0%               |
|            | 5°C         | 67% $\pm$ 0,21 a | 17% $\pm$ 0,22 a | 16% $\pm$ 0,21 a |
|            | -20°C       | 64% $\pm$ 0,20 a | 23% $\pm$ 0,24 a | 14% $\pm$ 0,16 a |
|            | -80°C       | 65% $\pm$ 0,22 a | 17% $\pm$ 0,19 a | 18% $\pm$ 0,23 a |
| <b>C48</b> | Inicial     | 87%              | 13%              | 0%               |
|            | 5°C         | 61% $\pm$ 0,24 b | 16% $\pm$ 0,19 a | 23% $\pm$ 0,21 a |
|            | -20°C       | 56% $\pm$ 0,24 b | 21% $\pm$ 0,20 a | 23% $\pm$ 0,19 a |
|            | -80°C       | 42% $\pm$ 0,23 a | 26% $\pm$ 0,20 a | 32% $\pm$ 0,19 a |



## 5.4.2. Especies silvestres

En el caso de las especies silvestres (*A. williamsii* y *A. trinitensis*) luego de ser almacenadas a  $-20^{\circ}\text{C}$  y  $-80^{\circ}\text{C}$ , los valores de viabilidad no presentaron diferencias significativas obteniéndose valores entre un 90 y 100%, siendo *A. trinitensis* el que mayor valor presentó (Tabla 5). Respecto al valor de semillas no viables fue *A. williamsii* el que mayor valor obtuvo (5-10%). Esto nos permite determinar que la especie *A. williamsii* tiende a perder su viabilidad cuando se somete a temperaturas bajas. Contrario a lo que determinaron en estudios realizados para *A. pintoii*, donde establecieron que el poder germinativo con plántulas normales de alta calidad se lograba a  $-20^{\circ}\text{C}$  (Cardozo *et al.* 1997).

**Tabla 5.** Semillas viables y no viables de las especies silvestres *A. williamsii* y *A. trinitensis* de acuerdo a la temperatura de almacenamiento. Se muestra el error estándar ( $\pm$ ) para cada porcentaje. Letra a en común para cada temperatura no son significativamente diferentes ( $p>0,05$ ).

| Especie               | Temperatura           | S. viables        | S. no viables    |
|-----------------------|-----------------------|-------------------|------------------|
| <i>A. williamsii</i>  | $-20^{\circ}\text{C}$ | 90% $\pm$ 0,15 a  | 10% $\pm$ 0,15 a |
|                       | $-80^{\circ}\text{C}$ | 95% $\pm$ 0,09 a  | 5% $\pm$ 0,09 a  |
| <i>A. trinitensis</i> | $-20^{\circ}\text{C}$ | 98% $\pm$ 0,07 a  | 2% $\pm$ 0,07 a  |
|                       | $-80^{\circ}\text{C}$ | 100% $\pm$ 0,00 a | 0% $\pm$ 0,00 a  |

Hasta el momento no se ha establecido una temperatura óptima para todas las especies en general, ya que las temperaturas de almacenamiento varían de acuerdo a la fisiología de cada especie, sin embargo, Hong *et al.* (1998) proponen que las semillas ortodoxas mantienen una viabilidad alta a  $-20^{\circ}\text{C}$ . En el presente trabajo no se pudo determinar de manera general una temperatura ideal de conservación, sin embargo, se puede definir que en almacenamiento a corto plazo cada cultivar pierde en menor o mayor grado su viabilidad independientemente de la temperatura. Hadas (2004), establece que las temperaturas bajas reducen las tasas metabólicas hasta el punto en que los procesos esenciales para la germinación disminuyen o dejan de ocurrir, lo que puede explicar el bajo porcentaje de viabilidad y el aumento relativo de las semillas sin germinar para el C48 a una temperatura de  $-80^{\circ}\text{C}$ . Diferente a lo que proponen Dickie *et al.* (1990), que cuanto menor es la temperatura de almacenamiento, mayor será el potencial de vida que pueden tener las semillas.

## 5.5. Empaquetado

### 5.5.1. Cultivares de *A. hypogaea*

El análisis estadístico para cada cultivar respecto al tipo de empaquetado (sobres de papel y bolsas gofradas cerradas al vacío) no mostró diferencias significativas. Sin embargo, se pudo observar que los valores de PN tienden a ser mayores en el empaquetado al vacío (el PN aumenta entre un 2-3%). Esta tendencia puede dar pautas de que el aumento de PN en empaquetados al vacío podría ser más pronunciado en conservaciones de semillas a mediano y largo plazo. Respecto a los valores de PA y SSG se repite lo observado en los factores anteriores, los valores de PA fueron similares para los 3 cultivares (16-21%), en cambio en los valores de SSG fueron mayores en C47 y C48 (SSG 14-27%) y menores para el C46 (SSG 1-5%) (Tabla 6).

**Tabla 6.** Plántulas normales (PN), plántulas anormales (PA) y de semillas sin germinar (SSG), de acuerdo al tipo de empaque en los tres cultivares de *A. hypogaea*. Se muestra el error estándar ( $\pm$ ) para cada porcentaje. Letra a en común para cada tipo de empaque no son significativamente diferentes ( $p>0,05$ ). En gris claro se presentan los valores iniciales para una mejor comparación.

| Cultivar   | Empaque | PN               | PA               | SSG              |
|------------|---------|------------------|------------------|------------------|
| <b>C46</b> | Inicial | 87%              | 0%               | 13%              |
|            | Papel   | 79% $\pm$ 0,17 a | 20% $\pm$ 0,18 a | 1% $\pm$ 0,07 a  |
|            | Vacío   | 79% $\pm$ 0,17 a | 16% $\pm$ 0,16 a | 5% $\pm$ 0,11 a  |
| <b>C47</b> | Inicial | 93%              | 7%               | 0%               |
|            | Papel   | 64% $\pm$ 0,23 a | 19% $\pm$ 0,21 a | 17% $\pm$ 0,23 a |
|            | Vacío   | 67% $\pm$ 0,19 a | 19% $\pm$ 0,22 a | 14% $\pm$ 0,17 a |
| <b>C48</b> | Inicial | 87%              | 13%              | 0%               |
|            | Papel   | 53% $\pm$ 0,26 a | 21% $\pm$ 0,19 a | 27% $\pm$ 0,22 a |
|            | Vacío   | 53% $\pm$ 0,20 a | 21% $\pm$ 0,21 a | 25% $\pm$ 0,19 a |

### 5.5.2. Maníes Silvestres

En el caso de las especies silvestres (*A. williamsii* y *A. trinitensis*) los diferentes tipos de empaquetados no mostraron diferencias estadísticas significativas. Sin embargo, ocurre lo mismo que en las cultivadas, se observa un leve aumento de semillas viables (2-5%) cuando las mismas fueron conservadas en bolsas gofradas al vacío, incluso en el caso de *A. trinitensis* la viabilidad se conservó en un 100% en este tipo de empaquetado (Tabla 7).

**Tabla 7.** Porcentaje de semillas viables y no viables de las especies silvestres *A. williamsii* y *A. trinitensis* teniendo en cuenta el tipo de empaquetado. Letras (a) en común para cada tipo de empaque no son significativamente diferentes ( $p>0,05$ ).

| Especie                      | Empaque | S. viables        | S. no viables    |
|------------------------------|---------|-------------------|------------------|
| <b><i>A. williamsii</i></b>  | Papel   | 90% $\pm$ 0,15 a  | 10% $\pm$ 0,15 a |
|                              | Vacío   | 95% $\pm$ 0,09 a  | 5% $\pm$ 0,09 a  |
| <b><i>A. trinitensis</i></b> | Papel   | 98% $\pm$ 0,07 a  | 2% $\pm$ 0,07 a  |
|                              | Vacío   | 100% $\pm$ 0,00 a | 0% $\pm$ 0,00 a  |

Para un almacenamiento correcto, las semillas deben colocarse en recipientes herméticamente cerrados, lo que mantiene un contenido de humedad constante en la semilla, reduce la respiración como resultado del incremento del dióxido de carbono y la disminución de oxígeno, y protege a las semillas de insectos y enfermedades (Harrington 1972; Wang 1974). Por otra parte, el uso de empaquetados herméticos en ensayos de conservación permite inferir que los cambios en la calidad de la semilla ocurridos durante el ensayo se atribuyeron solamente al contenido de humedad inicial de la semilla y al efecto de otros factores (Cardozo *et al.* 1997).



## 5.6. Presencia y ausencia de pericarpio

### 5.6.1. Cultivares de *A. hypogaea*

Para el caso de maní cultivado tampoco se mostraron diferencias estadísticas significativas en cuanto a la conservación de las semillas con presencia y ausencia de pericarpio en cada cultivar, manteniendo los valores de PN iguales para ambas condiciones en el C46. Sin embargo, en el C47 se puede ver una mínima diferencia del 3% entre la presencia y ausencia de pericarpio, presentándose un mayor valor en los casos con semillas con pericarpio, lo cual estaría indicando que a mediano y corto plazo este aumento podría ser significativo. Con respecto a los valores de PA y SSG, se puede volver a confirmar que la conservación de semillas afecta igualmente en la producción de PA a los 3 cultivares (16-22%) y respecto a SSG afecta mayormente a los cultivares C47 y C48 (SSG 15-27%) respecto al C46 con valores de 1-5% (Tabla 8).

### 5.6.2. Maníes Silvestres

En el caso de las especies silvestres (*A. williamsii* y *A. trinitensis*) la P/A de pericarpio tampoco mostró diferencias estadísticas significativas. Pero en este caso ocurre lo contrario que con las cultivadas. Se observa un leve aumento de la viabilidad (2%) cuando las semillas se conservaron sin pericarpio. Asimismo, en el caso de *A. trinitensis* la viabilidad se conservó en un 100% en ausencia de pericarpio (Tabla 9).

**Tabla 8.** Plántulas normales (PN), plántulas anormales (PA) y de semillas sin germinar (SSG), de acuerdo a la presencia (c/p) o ausencia de pericarpio (s/p) en los tres cultivares de *A. hypogaea*. Se muestra el error estándar ( $\pm$ ) para cada porcentaje. Letras (a) en común para cada temperatura no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ ) En gris claro se presentan los valores iniciales para una mejor comparación.

| Cultivar | Presencia/ Ausencia de pericarpio | PN               | PA               | SSG              |
|----------|-----------------------------------|------------------|------------------|------------------|
| C46      | Inicial                           | 87%              | 0%               | 13%              |
|          | C/p.                              | 79% $\pm$ 0,17 a | 16% $\pm$ 0,16 a | 5% $\pm$ 0,11 a  |
|          | S/p.                              | 79% $\pm$ 0,18 a | 20% $\pm$ 0,18 a | 1% $\pm$ 0,07 a  |
| C47      | Inicial                           | 93%              | 7%               | 0%               |
|          | C/p.                              | 67% $\pm$ 0,21 a | 16% $\pm$ 0,20 a | 17% $\pm$ 0,22 a |
|          | S/p                               | 64% $\pm$ 0,22 a | 21% $\pm$ 0,23 a | 15% $\pm$ 0,18 a |
| C48      | Inicial                           | 87%              | 13%              | 0%               |
|          | C/p.                              | 54% $\pm$ 0,24 a | 22% $\pm$ 0,18 a | 27% $\pm$ 0,21 a |
|          | S/p.                              | 51% $\pm$ 0,18 a | 22% $\pm$ 0,22 a | 26% $\pm$ 0,20 a |

**Tabla 9.** Semillas viables y no viables de las especies silvestres *A. williamsii* y *A. trinitensis* teniendo en cuenta la ausencia (s/p) o presencia de pericarpio (c/p). Letras (a) en común para cada temperatura no son significativamente diferentes ( $p>0,05$ ).

| Espece                | Empaque | S. viables    | S. no viables |
|-----------------------|---------|---------------|---------------|
| <i>A. williamsii</i>  | C/p     | 88% ± 0,15 a  | 12% ± 0,15 a  |
|                       | S/p     | 98% ± 0,07 a  | 2% ± 0,07 a   |
| <i>A. trinitensis</i> | C/p     | 98% ± 0,07 a  | 2% ± 0,07 a   |
|                       | S/p     | 100% ± 0,00 a | 0% ± 0,00 a   |

Navarro *et al.* (1989) determinaron que semillas de maní conservadas con pericarpio, a 15°C y con 8% de humedad de la semilla mantuvieron altos porcentajes de germinación (90%) en conservación a corto plazo (6 meses), y proponen que la conservación a temperaturas más elevadas (26 °C) deberían realizarse con humedad de las semillas aún más bajas. Asimismo, Gamba *et al.* (2016) obtuvieron altos valores de germinación con plántulas de mayor crecimiento cuando conservaron semillas de maní en frío con pericarpio. Echandi (1989) propone que almacenar las semillas de maní con pericarpio las protege de las bajas temperaturas y de daños mecánicos durante su manipulación.

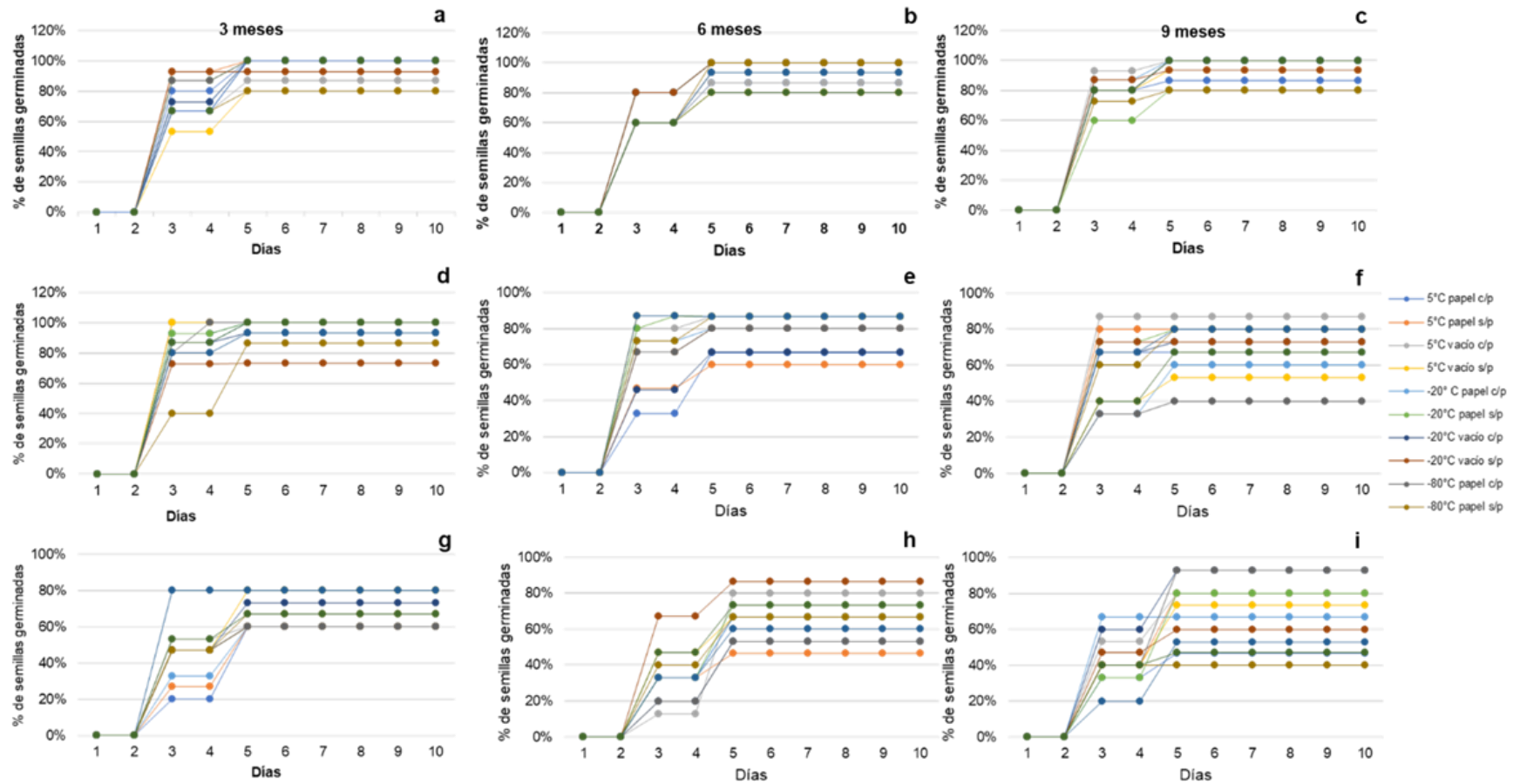
### 5.7. Energía germinativa para las semillas de maní cultivado

Con respecto al análisis de la energía germinativa (EG) para el porcentaje propuesto de semillas germinadas (60%), los valores variaron entre 3 y 5 días después de la siembra, comparado con la EG inicial que para los 3 cultivares fue de 3 días después de la siembra.

En el caso de C46 se puede observar que la EG luego de los tratamientos de conservación se mantuvieron durante los diferentes períodos de almacenamiento (3, 6 y 9 meses), sólo un tratamiento (5°C, 3 meses, empaquetado al vacío y semillas sin pericarpio) recién alcanzó el 60% de germinación al quinto día (Fig. 15 a). Estos resultados indican que las semillas mantienen alta viabilidad y vigor a pesar de las diferentes condiciones a las que fueron sometidas.

En el C47 lo que se puede observar es que hay un retraso de la germinación a partir de los 6 y 9 meses, es decir que a los 3 meses la EG se mantuvo en 3 días siendo igual a la EG inicial, excepto un solo tratamiento que alcanzó al quinto día el porcentaje propuesto (-80°C, empaquetado papel y semillas sin pericarpio). A los 6 meses y 9 meses hubo 5 tratamientos (no coincidentes en los dos períodos) en los cuales las semillas alcanzaron el 60% de germinación recién al quinto día después de la siembra (Fig. 15 d, e, f).

En el C48 se observa un retraso en la germinación en los diferentes períodos de conservación. A los 3 meses sólo un tratamiento (-20°C, empaquetado al vacío y semillas con pericarpio) supera el 60% de germinación al tercer día después de la siembra, los demás recién alcanzaron al quinto día. Incluso, se observó que a los 6 y a los 9 meses hubo más de dos tratamientos (2 y 4 tratamientos respectivamente) que nunca alcanzaron el 60% de germinación. (Fig. 15 g, h, i).



**Figura 15.** Energía germinativa para los 3 cultivares (C46, C47 y C48) de *A. hypogaea* durante los 3 periodos de almacenamiento (3, 6 y 9 meses). a- EG del C46 a 3 meses de almacenamiento; b- EG del C46 a 6 meses de almacenamiento; c- EG del C46 a 9 meses de almacenamiento; d- EG del C47 a 3 meses de almacenamiento; e- EG del C47 a 6 meses de almacenamiento; f- EG del C47 a 9 meses de almacenamiento; g- EG del C48 a 3 meses de almacenamiento; h- EG del C48 a 9 meses de almacenamiento; i- EG del C48 a 9 meses de almacenamiento.

## 6. CONCLUSIONES

- La determinación de los factores óptimos para la conservación de semillas en bancos de germoplasma es relevante para evitar la pérdida de recursos genéticos.
- Los ensayos realizados permitieron concluir que no es posible determinar un tratamiento óptimo único para todo el material analizado, ya que cada material presenta características morfológicas y fisiológicas particulares, de modo que habría que determinar las condiciones óptimas para cada especie.
- Las pruebas realizadas no permitieron determinar la temperatura óptima para conservar las semillas. Las tres temperaturas fueron efectivas para una conservación a corto plazo.
- Los ensayos realizados permitieron determinar que las condiciones óptimas para conservar las semillas en lo referente al empaque es al vacío.
- Los ensayos realizados permitieron determinar que las semillas con pericarpio presentan mejor comportamiento en las pruebas de viabilidad.

## 7.ANEXO

**Tabla A1:** Plántulas anormales de *A. hypogaea* obtenidas del análisis estadístico de Kruskal-Wallis, teniendo en cuenta los 4 factores combinados: tiempo (T), temperatura (t), empaquetado (E), presencia/ausencia de pericarpio (P/A pericarpio).

| Trat.                 | Ranks              |
|-----------------------|--------------------|
| 5°C:3m:vacio:0        | 88,00 A            |
| 5°C:3m:papel:1        | 88,00 A            |
| menos 20°C:3m:papel:1 | 88,00 A            |
| menos 20°C:3m:vacio:1 | 101,89 A B         |
| 5°C:3m:papel:0        | 101,89 A B         |
| menos 20°C:3m:papel:0 | 101,89 A B         |
| menos 20°C:3m:vacio:0 | 115,78 A B C       |
| menos 80°C:3m:papel:0 | 122,89 A B C D     |
| menos 80°C:3m:vacio:1 | 122,89 A B C D     |
| menos 80°C:3m:vacio:0 | 122,89 A B C D     |
| menos 80°C:3m:papel:1 | 129,67 A B C D E   |
| 5°C:3m:vacio:1        | 129,67 A B C D E   |
| 5°C:9m:papel:0        | 136,78 A B C D E F |
| menos 20°C:6m:papel:0 | 143,89 A B C D E F |
| menos 20°C:6m:vacio:0 | 150,67 A B C D E F |
| 5°C:9m:vacio:1        | 157,44 A B C D E F |
| menos 20°C:9m:vacio:1 | 164,56 A B C D E F |
| menos 80°C:6m:papel:0 | 171,67 A B C D E F |
| menos 20°C:6m:papel:1 | 171,67 A B C D E F |
| 5°C:6m:vacio:0        | 178,78 B C D E F G |
| menos 20°C:9m:papel:1 | 182,67 B C D E F G |
| menos 80°C:9m:papel:1 | 187,78 B C D E F G |
| menos 80°C:6m:vacio:0 | 189,44 B C D E F G |
| menos 80°C:6m:papel:1 | 189,78 B C D E F G |
| menos 80°C:9m:vacio:1 | 189,78 B C D E F G |
| menos 20°C:9m:papel:0 | 190,13 B C D E F G |
| menos 20°C:9m:vacio:0 | 196,56 C D E F G   |
| menos 80°C:9m:papel:0 | 197,56 C D E F G   |
| menos 80°C:6m:vacio:1 | 199,44 C D E F G   |
| 5°C:6m:vacio:1        | 199,44 C D E F G   |
| 5°C:6m:papel:1        | 201,50 C D E F G   |
| 5°C:9m:vacio:0        | 203,67 D E F G     |
| menos 80°C:9m:vacio:0 | 214,67 E F G       |
| 5°C:6m:papel:0        | 217,89 F G         |
| 5°C:9m:papel:1        | 222,50 F G         |
| menos 20°C:6m:vacio:1 | 263,44 G           |

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

**Tabla A2:** Semillas sin germinar de *A. hypogaea* obtenidas del análisis estadístico de Kruskal-Wallis, teniendo en cuenta los 4 factores combinados: tiempo (T), temperatura (t), empaquetado (E), presencia/ausencia de pericarpio (P/A pericarpio).

| Trat.                 | Ranks              |
|-----------------------|--------------------|
| 5°C:3m:vacio:0        | 88,00 A            |
| 5°C:3m:papel:1        | 88,00 A            |
| menos 20°C:3m:papel:1 | 88,00 A            |
| menos 20°C:3m:vacio:1 | 101,89 A B         |
| 5°C:3m:papel:0        | 101,89 A B         |
| menos 20°C:3m:papel:0 | 101,89 A B         |
| menos 20°C:3m:vacio:0 | 115,78 A B C       |
| menos 80°C:3m:papel:0 | 122,89 A B C D     |
| menos 80°C:3m:vacio:1 | 122,89 A B C D     |
| menos 80°C:3m:vacio:0 | 122,89 A B C D     |
| menos 80°C:3m:papel:1 | 129,67 A B C D E   |
| 5°C:3m:vacio:1        | 129,67 A B C D E   |
| 5°C:9m:papel:0        | 136,78 A B C D E F |
| menos 20°C:6m:papel:0 | 143,89 A B C D E F |
| menos 20°C:6m:vacio:0 | 150,67 A B C D E F |
| 5°C:9m:vacio:1        | 157,44 A B C D E F |
| menos 20°C:9m:vacio:1 | 164,56 A B C D E F |
| menos 80°C:6m:papel:0 | 171,67 A B C D E F |
| menos 20°C:6m:papel:1 | 171,67 A B C D E F |
| 5°C:6m:vacio:0        | 178,78 B C D E F G |
| menos 20°C:9m:papel:1 | 182,67 B C D E F G |
| menos 80°C:9m:papel:1 | 187,78 B C D E F G |
| menos 80°C:6m:vacio:0 | 189,44 B C D E F G |
| menos 80°C:6m:papel:1 | 189,78 B C D E F G |
| menos 80°C:9m:vacio:1 | 189,78 B C D E F G |
| menos 20°C:9m:papel:0 | 190,13 B C D E F G |
| menos 20°C:9m:vacio:0 | 196,56 C D E F G   |
| menos 80°C:9m:papel:0 | 197,56 C D E F G   |
| menos 80°C:6m:vacio:1 | 199,44 C D E F G   |
| 5°C:6m:vacio:1        | 199,44 C D E F G   |
| 5°C:6m:papel:1        | 201,50 C D E F G   |
| 5°C:9m:vacio:0        | 203,67 D E F G     |
| menos 80°C:9m:vacio:0 | 214,67 E F G       |
| 5°C:6m:papel:0        | 217,89 F G         |
| 5°C:9m:papel:1        | 222,50 F G         |
| menos 20°C:6m:vacio:1 | 263,44 G           |

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

**Tabla A3:** Plántulas anormales de *A. hypogaea* obtenidas del análisis estadístico de Kruskal-Wallis, teniendo en cuenta la combinación de los factores temperatura y tiempo.

| Trat.         | Ranks      |
|---------------|------------|
| 5°C:6m        | 107,00 A   |
| menos 80°C:9m | 132,17 A B |
| menos 20°C:9m | 137,67 A B |
| 5°C:9m        | 140,63 A B |
| menos 20°C:6m | 161,72 B C |
| menos 80°C:3m | 186,96 C   |
| menos 80°C:6m | 192,79 C   |
| 5°C:3m        | 201,76 C   |
| menos 20°C:3m | 201,81 C   |

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

**Tabla A4:** Semillas sin germinar de *A. hypogaea* obtenidas del análisis estadístico de Kruskal-Wallis, teniendo en cuenta la combinación de los factores temperatura y tiempo.

| Trat.         | Ranks    |
|---------------|----------|
| 5°C:3m        | 101,89 A |
| menos 20°C:3m | 101,89 A |
| menos 80°C:3m | 124,58 A |
| 5°C:9m        | 180,10 B |
| menos 20°C:6m | 182,42 B |
| menos 20°C:9m | 183,29 B |
| menos 80°C:6m | 187,58 B |
| menos 80°C:9m | 197,44 B |
| 5°C:6m        | 199,40 B |

*Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)*

**Tabla A5:** Plántulas anormales de *A. hypogaea* obtenidas del análisis estadístico de Kruskal-Wallis, teniendo en cuenta la combinación de los factores tiempo y tipo de empaque.

| Trat.    | Ranks      |
|----------|------------|
| 9m:vacio | 133,03 A   |
| 6m:vacio | 133,94 A   |
| 9m:papel | 140,61 A B |
| 6m:papel | 173,73 B C |
| 3m:papel | 188,43 C   |
| 3m:vacio | 205,26 C   |

*Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)*

**Tabla A6:** Semillas sin germinar de *A. hypogaea* obtenidas del análisis estadístico de Kruskal-Wallis, teniendo en cuenta la combinación de los factores tiempo y tipo de empaque.

| Trat.    | Ranks    |
|----------|----------|
| 3m:papel | 105,39 A |
| 3m:vacio | 113,52 A |
| 6m:papel | 182,73 B |
| 9m:papel | 186,16 B |
| 9m:vacio | 187,78 B |
| 6m:vacio | 196,87 B |

*Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)*

**Tabla A7:** Plántulas anormales de *A. hypogaea* obtenidas del análisis estadístico de Kruskal-Wallis, teniendo en cuenta la combinación de los factores tiempo y Ausencia (0) y presencia (1) de pericarpio.

| Trat. | Ranks      |
|-------|------------|
| 9m:1  | 131,47 A   |
| 9m:0  | 142,17 A   |
| 6m:1  | 143,45 A   |
| 6m:0  | 164,22 A B |
| 3m:1  | 186,67 B C |
| 3m:0  | 207,02 C   |

*Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)*

**Tabla A8:** Semillas sin germinar de *A. hypogaea* obtenidas del análisis estadístico de Kruskal-Wallis, teniendo en cuenta la combinación de los factores tiempo y Ausencia (0) y presencia (1) de pericarpio.

| Trat. Ranks |        |   |
|-------------|--------|---|
| 3m:0        | 108,89 | A |
| 3m:1        | 110,02 | A |
| 6m:0        | 175,39 | B |
| 9m:1        | 184,12 | B |
| 9m:0        | 189,89 | B |
| 6m:1        | 204,21 | B |

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

**Tabla A9:** Semillas viables de *A. trinitensis* y *A. williamsii* obtenidas del análisis estadístico de Kruskal-Wallis, teniendo en cuenta la combinación de los cuatro factores: temperatura, tiempo, empaquetado y ausencia y presencia de pericarpio. 0: papel; 1: vacío; 2: presencia de pericarpio y 3: ausencia de pericarpio.

| Variable | Temperatura | Empaquetado | Ausencia o presencia de pe.. | Tiempo | N | Medias | D.E. | Medianas | H    | p      |
|----------|-------------|-------------|------------------------------|--------|---|--------|------|----------|------|--------|
| Viables  | -20         | 0           | 2                            | 3      | 2 | 1,00   | 0,00 | 1,00     | 8,23 | 0,2692 |
| Viables  | -20         | 0           | 2                            | 9      | 2 | 0,80   | 0,00 | 0,80     |      |        |
| Viables  | -20         | 0           | 3                            | 3      | 2 | 1,00   | 0,00 | 1,00     |      |        |
| Viables  | -20         | 0           | 3                            | 9      | 2 | 1,00   | 0,00 | 1,00     |      |        |
| Viables  | -20         | 1           | 2                            | 3      | 2 | 0,80   | 0,28 | 0,80     |      |        |
| Viables  | -20         | 1           | 2                            | 9      | 2 | 1,00   | 0,00 | 1,00     |      |        |
| Viables  | -20         | 1           | 3                            | 3      | 2 | 1,00   | 0,00 | 1,00     |      |        |
| Viables  | -20         | 1           | 3                            | 9      | 2 | 0,90   | 0,14 | 0,90     |      |        |
| Viables  | -80         | 0           | 2                            | 3      | 2 | 0,90   | 0,14 | 0,90     |      |        |
| Viables  | -80         | 0           | 2                            | 9      | 2 | 1,00   | 0,00 | 1,00     |      |        |
| Viables  | -80         | 0           | 3                            | 3      | 2 | 1,00   | 0,00 | 1,00     |      |        |
| Viables  | -80         | 0           | 3                            | 9      | 2 | 1,00   | 0,00 | 1,00     |      |        |
| Viables  | -80         | 1           | 2                            | 3      | 2 | 0,90   | 0,14 | 0,90     |      |        |
| Viables  | -80         | 1           | 2                            | 9      | 2 | 1,00   | 0,00 | 1,00     |      |        |
| Viables  | -80         | 1           | 3                            | 3      | 2 | 1,00   | 0,00 | 1,00     |      |        |
| Viables  | -80         | 1           | 3                            | 9      | 2 | 1,00   | 0,00 | 1,00     |      |        |

**Tabla A10:** Semillas no viables de *A. trinitensis* y *A. williamsii* obtenidas del análisis estadístico de Kruskal-Wallis, teniendo en cuenta la combinación de los cuatro factores: temperatura, tiempo, empaquetado y ausencia y presencia de pericarpio. 0: papel; 1: vacío; 2: presencia de pericarpio y 3: ausencia de pericarpio.

| Variable   | Temperatura | Empaquetado | Ausencia o presencia de pe.. | Tiempo | N | Medias | D.E. | Medianas | H    | p      |
|------------|-------------|-------------|------------------------------|--------|---|--------|------|----------|------|--------|
| No viables | -20         | 0           | 2                            | 3      | 2 | 0,00   | 0,00 | 0,00     | 8,23 | 0,2692 |
| No viables | -20         | 0           | 2                            | 9      | 2 | 0,20   | 0,00 | 0,20     |      |        |
| No viables | -20         | 0           | 3                            | 3      | 2 | 0,00   | 0,00 | 0,00     |      |        |
| No viables | -20         | 0           | 3                            | 9      | 2 | 0,00   | 0,00 | 0,00     |      |        |
| No viables | -20         | 1           | 2                            | 3      | 2 | 0,20   | 0,28 | 0,20     |      |        |
| No viables | -20         | 1           | 2                            | 9      | 2 | 0,00   | 0,00 | 0,00     |      |        |
| No viables | -20         | 1           | 3                            | 3      | 2 | 0,00   | 0,00 | 0,00     |      |        |
| No viables | -20         | 1           | 3                            | 9      | 2 | 0,10   | 0,14 | 0,10     |      |        |
| No viables | -80         | 0           | 2                            | 3      | 2 | 0,10   | 0,14 | 0,10     |      |        |
| No viables | -80         | 0           | 2                            | 9      | 2 | 0,00   | 0,00 | 0,00     |      |        |
| No viables | -80         | 0           | 3                            | 3      | 2 | 0,00   | 0,00 | 0,00     |      |        |
| No viables | -80         | 0           | 3                            | 9      | 2 | 0,00   | 0,00 | 0,00     |      |        |
| No viables | -80         | 1           | 2                            | 3      | 2 | 0,10   | 0,14 | 0,10     |      |        |
| No viables | -80         | 1           | 2                            | 9      | 2 | 0,00   | 0,00 | 0,00     |      |        |
| No viables | -80         | 1           | 3                            | 3      | 2 | 0,00   | 0,00 | 0,00     |      |        |
| No viables | -80         | 1           | 3                            | 9      | 2 | 0,00   | 0,00 | 0,00     |      |        |



**Tabla A11:** Semillas viables y no viables de *A. trinitensis* y *A. williamsii* obtenidas del análisis estadístico de Kruskal-Wallis, teniendo en cuenta la combinación de los factores: temperatura y tiempo.

| Variable | Temperatura | Tiempo | N | Medias | D.E. | Medianas | H    | p      |
|----------|-------------|--------|---|--------|------|----------|------|--------|
| Viabiles | -20         | 3      | 8 | 0,95   | 0,14 | 1,00     | 1,65 | 0,3099 |
| Viabiles | -20         | 9      | 8 | 0,93   | 0,10 | 1,00     |      |        |
| Viabiles | -80         | 3      | 8 | 0,95   | 0,09 | 1,00     |      |        |
| Viabiles | -80         | 9      | 8 | 1,00   | 0,00 | 1,00     |      |        |

| Variable   | Temperatura | Tiempo | N | Medias | D.E. | Medianas | H    | p      |
|------------|-------------|--------|---|--------|------|----------|------|--------|
| No viables | -20         | 3      | 8 | 0,05   | 0,14 | 0,00     | 1,65 | 0,3099 |
| No viables | -20         | 9      | 8 | 0,08   | 0,10 | 0,00     |      |        |
| No viables | -80         | 3      | 8 | 0,05   | 0,09 | 0,00     |      |        |
| No viables | -80         | 9      | 8 | 0,00   | 0,00 | 0,00     |      |        |

**Tabla A12:** Semillas viables y no viables de *A. trinitensis* y *A. williamsii* obtenidas del análisis estadístico de Kruskal-Wallis, teniendo en cuenta la combinación de dos factores: temperatura y empaquetado (0: papel;1: vacío).

| Variable | Temperatura | Empaquetado | N | Medias | D.E. | Medianas | H    | p      |
|----------|-------------|-------------|---|--------|------|----------|------|--------|
| Viabiles | -20         | 0           | 8 | 0,95   | 0,09 | 1,00     | 0,42 | 0,8240 |
| Viabiles | -20         | 1           | 8 | 0,93   | 0,15 | 1,00     |      |        |
| Viabiles | -80         | 0           | 8 | 0,98   | 0,07 | 1,00     |      |        |
| Viabiles | -80         | 1           | 8 | 0,98   | 0,07 | 1,00     |      |        |

| Variable   | Temperatura | Empaquetado | N | Medias | D.E. | Medianas | H    | p      |
|------------|-------------|-------------|---|--------|------|----------|------|--------|
| No viables | -20         | 0           | 8 | 0,05   | 0,09 | 0,00     | 0,42 | 0,8240 |
| No viables | -20         | 1           | 8 | 0,08   | 0,15 | 0,00     |      |        |
| No viables | -80         | 0           | 8 | 0,03   | 0,07 | 0,00     |      |        |
| No viables | -80         | 1           | 8 | 0,03   | 0,07 | 0,00     |      |        |

**Tabla A13:** Semillas viables y no viables de *A. trinitensis* y *A. williamsii* obtenidas del análisis estadístico de Kruskal-Wallis, teniendo en cuenta la combinación de dos factores: temperatura y presencia (2) y ausencia (3) de pericarpio.

| Variable | Temperatura | Ausencia o presencia de pe.. | N | Medias | D.E. | Medianas | H    | p      |
|----------|-------------|------------------------------|---|--------|------|----------|------|--------|
| Viabiles | -20         | 2                            | 8 | 0,90   | 0,15 | 1,00     | 1,91 | 0,2448 |
| Viabiles | -20         | 3                            | 8 | 0,98   | 0,07 | 1,00     |      |        |
| Viabiles | -80         | 2                            | 8 | 0,95   | 0,09 | 1,00     |      |        |
| Viabiles | -80         | 3                            | 8 | 1,00   | 0,00 | 1,00     |      |        |

| Variable   | Temperatura | Ausencia o presencia de pe.. | N | Medias | D.E. | Medianas | H    | p      |
|------------|-------------|------------------------------|---|--------|------|----------|------|--------|
| No viables | -20         | 2                            | 8 | 0,10   | 0,15 | 0,00     | 1,91 | 0,2448 |
| No viables | -20         | 3                            | 8 | 0,03   | 0,07 | 0,00     |      |        |
| No viables | -80         | 2                            | 8 | 0,05   | 0,09 | 0,00     |      |        |
| No viables | -80         | 3                            | 8 | 0,00   | 0,00 | 0,00     |      |        |

**Tabla A14:** Semillas viables y no viables de *A. trinitensis* y *A. williamsii* obtenidas del análisis estadístico de Kruskal-Wallis, teniendo en cuenta la combinación de dos factores: tiempo y empaquetado (0: papel;1: vacío)

| Variable | Tiempo | Empaquetado | N | Medias | D.E. | Medianas | H    | p      |
|----------|--------|-------------|---|--------|------|----------|------|--------|
| Viables  | 3      | 0           | 8 | 0,98   | 0,07 | 1,00     | 0,42 | 0,8240 |
| Viables  | 3      | 1           | 8 | 0,93   | 0,15 | 1,00     |      |        |
| Viables  | 9      | 0           | 8 | 0,95   | 0,09 | 1,00     |      |        |
| Viables  | 9      | 1           | 8 | 0,98   | 0,07 | 1,00     |      |        |

| Variable   | Tiempo | Empaquetado | N | Medias | D.E. | Medianas | H    | p      |
|------------|--------|-------------|---|--------|------|----------|------|--------|
| No viables | 3      | 0           | 8 | 0,03   | 0,07 | 0,00     | 0,42 | 0,8240 |
| No viables | 3      | 1           | 8 | 0,08   | 0,15 | 0,00     |      |        |
| No viables | 9      | 0           | 8 | 0,05   | 0,09 | 0,00     |      |        |
| No viables | 9      | 1           | 8 | 0,03   | 0,07 | 0,00     |      |        |

**Tabla A15:** Semillas viables y no viables de *A. trinitensis* y *A. williamsii* obtenidas del análisis estadístico de Kruskal-Wallis, teniendo en cuenta la combinación de dos factores: tiempo y presencia (2) y ausencia (3) de pericarpio.

| Variable | Tiempo | Ausencia o presencia de pe.. | N | Medias | D.E. | Medianas | H    | p      |
|----------|--------|------------------------------|---|--------|------|----------|------|--------|
| Viables  | 3      | 2                            | 8 | 0,90   | 0,15 | 1,00     | 1,91 | 0,2448 |
| Viables  | 3      | 3                            | 8 | 1,00   | 0,00 | 1,00     |      |        |
| Viables  | 9      | 2                            | 8 | 0,95   | 0,09 | 1,00     |      |        |
| Viables  | 9      | 3                            | 8 | 0,98   | 0,07 | 1,00     |      |        |

| Variable   | Tiempo | Ausencia o presencia de pe.. | N | Medias | D.E. | Medianas | H    | p      |
|------------|--------|------------------------------|---|--------|------|----------|------|--------|
| No viables | 3      | 2                            | 8 | 0,10   | 0,15 | 0,00     | 1,91 | 0,2448 |
| No viables | 3      | 3                            | 8 | 0,00   | 0,00 | 0,00     |      |        |
| No viables | 9      | 2                            | 8 | 0,05   | 0,09 | 0,00     |      |        |
| No viables | 9      | 3                            | 8 | 0,03   | 0,07 | 0,00     |      |        |

**Tabla A16:** Semillas viables y no viables de *A. trinitensis* y *A. williamsii* obtenidas del análisis estadístico de Kruskal-Wallis, teniendo en cuenta la combinación de dos factores: empaquetado (0: papel;1: vacío) y la presencia (2) y ausencia (3) de pericarpio.

| Variable | Ausencia o presencia de pe.. | Empaquetado | N | Medias | D.E. | Medianas | H    | p      |
|----------|------------------------------|-------------|---|--------|------|----------|------|--------|
| Viables  | 2                            | 0           | 8 | 0,93   | 0,10 | 1,00     | 1,78 | 0,2756 |
| Viables  | 2                            | 1           | 8 | 0,93   | 0,15 | 1,00     |      |        |
| Viables  | 3                            | 0           | 8 | 1,00   | 0,00 | 1,00     |      |        |
| Viables  | 3                            | 1           | 8 | 0,98   | 0,07 | 1,00     |      |        |

| Variable   | Ausencia o presencia de pe.. | Empaquetado | N | Medias | D.E. | Medianas | H    | p      |
|------------|------------------------------|-------------|---|--------|------|----------|------|--------|
| No viables | 2                            | 0           | 8 | 0,08   | 0,10 | 0,00     | 1,78 | 0,2756 |
| No viables | 2                            | 1           | 8 | 0,08   | 0,15 | 0,00     |      |        |
| No viables | 3                            | 0           | 8 | 0,00   | 0,00 | 0,00     |      |        |
| No viables | 3                            | 1           | 8 | 0,03   | 0,07 | 0,00     |      |        |

## 8. BIBLIOGRAFÍA

Álava, J. 2012. Determinación de las características agronómicas de 15 cultivares de maní (*Arachis hypogaea* L.) tipo Valencia en la parroquia Virgen de Fátima. Yaguachi- Guayas.

Bandyopadhyay, A.; P.C. Nautiyal; T. Radhakrishnan y H.K. Gor. 1999. Role of testa, cotyledons and embryonic axis in seed dormancy of groundnut (*Arachis hypogaea* L.). *J. Agron. Crop Sci.* 182(1): 37-41.

Borrajo, C. 2006. Importancia de la calidad de semillas. Curso Internacional en Ganadería Bovina Subtropical. Reconquista, Argentina.

Cámara Argentina de Maní. 2017. Estadísticas. <https://camaradelmani.org.ar/estadisticas/>

Cardozo Conde, C. I., López Forero, Y., y Ferguson, J. 1997. Caracterización fisiológica de la semilla de *Arachis pinto* krap. et greig. nom. nud. en tres ambientes de almacenamiento.

Cerolini, F., Fernandez, E. M., Pahud, D., Giayetto, O., Cerioni, G. A., Morla, F. A., y Rosso, M. B. 2015. El proceso de selección y clasificación del maní y la calidad fisiológica de semillas. Jornada Nacional de Maní. 30. 2015 09 17, 17 de setiembre 2015. General Cabrera, Córdoba. AR

Dickie, J.B., Ellis, R.H.; Kraak, H.L. Ryder, K. y Tompsett P.B. 1990. Temperature and seed storage longevity. *Ann. Bot.* 65: 197-204.

Di Rienzo J.A., Casanoves F., Balzarini M.G., Gonzalez L., Tablada M., y Robledo C.W. InfoStat versión 2020. Centro de Transferencia InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>

Echandi, C., y Villalobos, E. 1989. Duración del reposo de la semilla de tres cultivares de maní en respuesta a diferentes condiciones de almacenamiento. *Agronomía Costarricense (Costa Rica)*. (Jul-Dic, 13(2), 143-152.

FAO/IPGRI. 1994. Normas para Bancos de Genes. FAO y el IPGRI, Roma, Italia. Disponible en [http://www.biodiversityinternational.org/publications/pubfile.asp?ID\\_PUB=1250](http://www.biodiversityinternational.org/publications/pubfile.asp?ID_PUB=1250).

FAOSTAT 2021. <https://www.fao.org/faostat/es/#home>

Fernández, E.M. 1996. Produtividade e qualidade de amendoim (*Arachis hypogaea* L) em funcao da calagem e do metodo de secagem. Tesis Doctorado en Agronomia, AC. Agricultura. FCA - UNESP, Botucatu-SP, Brasil. 123 p.

Fernández E. M. y Giayetto O. 2017. El cultivo de maní en Córdoba. Segunda edición ampliada. Universidad Nacional de Rio Cuarto. Las Higueras, Córdoba. Argentina.

Fernández, E.M. y Tomaselli L.F. 2006. Calidad fisiológica de semillas de maní (*Arachis hypogaea* L.) influenciada por la aplicación foliar de calcio y boro. V. *Encuentro Internacional de especialistas en Arachis*. Rio Cuarto, 04-07/04/06. s/p

Franco, T. 2008. Los Bancos de germoplasma de las Américas. Recursos Naturales y Medio Ambiente N.º 53: pág. 81 – 84. Bioversity International– Regional Office for the Américas c/o Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). Apartado Aéreo 6713. Cali, Colombia.

Gamba, J; Morichetti S. y Pérez, M.A. 2016. Calidad de semillas de maní: viabilidad, vigor y emergencia en el campo de cada fracción física componente de un lote de semilla de maní y su impacto económico. Trust Control International;(2) AGD S. A;(3) FCA-UNC trust.lab.cba@trust-control.com.

Hadas, A. 2004. Seedbed preparation: The soil physical environment of germinating seeds. p. 3-49. In R.L. Benech-Arnold and R.A. Sanchez (eds.). *Handbook of Seed Physiology: Applications to Agriculture*. Food Product Press, New York, USA.

Harrington, J.F. 1972. Seed storage and longevity. In: T.T. Kozlowski (ed.), *Seed biology*, Vol. 3. Academic Press, New York. pp: 145-240

Holbrook, C.C. y Stalker H.T. 2003. Peanut Breeding and Genetic Resources. *Plant Breeding Reviews*, Volume 22, Edited by Jules Janick. ISBN 0-471-21541-4 © 2003 John Wiley & Sons, Inc.

Hong, T. D., Ellis, R. H., y Linington, S. 1998. Compendium of information on seed storage behaviour. The Royal Botanic Gardens.

IBPGR. 1976. Report of IBPGR Working group on engineering, design and cost aspects of long-term seed storage facilities. International Board for Plant Genetic Resources Secretariat, Rome. 19 p.

Krapovickas A y Gregory W. 1994. Taxonomía del Género *Arachis* (Leguminosae). *Bonplandia* 8 (1-4): 1-186.

Navarro, S.; E. Donahaye; R. Kleinerman y H. Haham. 1989. The influence of temperature and moisture content on the germination of peanut seeds. *Peanut Sci.* 16(1): 6-9.

Pérez, M. A., y Argüello, J. A. 1997. Determinación del vigor por tetrazolio en semillas de maní (*Arachis hypogaea* L.) bajo distintas condiciones de almacenamiento. *AgriScientia*, XIV, 19-24.

Pérez, M.L.; Pirondo, A.; Cabrera Castellano, C.; Royo, O. y Seijo J.G. 2021. Etnovariedades de maní mantenidas por las familias agricultoras del NO de la Provincia de Corrientes. III Jornadas Argentina de Etnobiología y Sociedad. Revista del Museo de La Plata. VOL. 6, SUPLEMENTO RESÚMENES: 63. <https://congresos.unlp.edu.ar/iiijaes/wp-content/uploads/sites/25/2021/11/Libro-de-resumenes-III-JAES.pdf>

Pérez, M., y García, K. 2015. Manual del cultivo de maní con criterios de sustentabilidad. *La Paz*.

Pérez, N. B. y Pizarro, E. 2006. Producción animal en asociaciones gramíneas-maní forrajero. SEMINARIO DE PASTOS Y FORRAJES, 10, 109-119.

Rao, N.K.; J. Hanson; M.E. Dulloo; K. Ghosh; D. Novell y Larinde M. 2007. Manual para el manejo de semillas en bancos de germoplasma. Manuales para Bancos de Germoplasma No. 8. Bioversity International, Roma, Italia.

Robledo G. y Seijo G. 2010. Species relationships among the wild B genome of *Arachis* species (section *Arachis*) based on FISH mapping of rDNA loci and heterochromatin detection: a new proposal for genome arrangement. , 121(6), 1033–1046. doi:10.1007/s00122-010-1369-7

Sánchez Arellano, J. G.; Olivas, M. F. S.; Galindo, M. A. P. y Pérez, D. P. 2011. Efecto de la temperatura y tiempo de almacenamiento sobre la viabilidad en semillas de zámota (*Coursetia glandulosa*, Gray). Biotecnica, 13(3), 36-40.

Santana SH y Valls, J.F.M. 2015. *Arachis veigae* (Fabaceae), the most dispersed wild species of the genus, and yet taxonomically overlooked. Bonplandia 24:139-150.

Seijo, G. J.; Atahuachi M., Simpson C. E. y Krapovickas. A. 2021. *Arachis inflata*: A New B Genome species of *Arachis* (Fabaceae). Bonplandia 30(2): 169-174.

Sistema de Información Simplificado Agrícola (SISA) 2020-2021. Instituto Nacional de Semillas. (INASE). Informe de Maní 2020-2021. Disponible en: [https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/sisa\\_if\\_mani\\_20\\_21.pdf](https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/sisa_if_mani_20_21.pdf)

Standwood, P.C. 1985. Cryopreservation of seed germplasm for genetic conservation. In: K.K. Kartha (ed.), Cryopreservation of plant cells and organs. CRC, Boca Raton, Florida. pp: 199-226.

Valls J.F.M. y Simpson C.E. 2005. New species of *Arachis* (Leguminosae) from Brazil, Paraguay and Bolivia. Bonplandia 14:35–64.

Valls J.F.M. y Simpson. C.E. 2017. A new species of *Arachis* (Fabaceae) from Mato Grosso, Brazil, related *Arachis matiensis*. Bonplandia. 26: 143-149.

Valls J.F.M.; Costa L.C. y Custodio A. 2013. A novel trifoliolate species of *Arachis* (Fabaceae) and further comments on the taxonomic section *Trierectoides*. Bonpalndia 22:91-97.

Wang, B.S.P. 1974. Tree seed storage. Department of Environment, Canadian Forest Service Publication No. 1335. Ottawa. 32