

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA

FACULTAD DE AGRONOMÍA

CARACTERIZACIÓN DE VARIEDADES CRIOLLAS DE MANÍ Y
POBLACIONES DE RIZOBIOS EN SUELOS BAJO CULTIVO

por

Rafael ARTUCIO
Santiago CASTELO

TESIS presentada como uno de los
requisitos para obtener el título de
Ingeniero Agrónomo

MONTEVIDEO
URUGUAY
2022

Tesis aprobada por:

Director: _____

Dr. Rafael Vidal

Dr. Gastón Azziz

Lic. Paola Gaiero

Dr. Raúl Platero

Fecha: 28 de abril de 2022

Autores: _____

Rafael Artucio

Santiago Castelo

AGRADECIMIENTOS

A la Facultad de Agronomía por permitirnos acceder a nuestra formación académica.

A los tutores de tesis Dr. Rafael Vidal y al Dr. Gastón Azziz, por permitirnos la oportunidad de elaborar este trabajo de tesis y el apoyo brindado durante la realización de dicho trabajo.

A los docentes Magdalena Vaio, Francisco Vilaró y Eliana Monteverde, por el apoyo y experiencia aportados.

A los compañeros Ximena Castro, Ignacio Naya y Gastón Martínez, por la ayuda y compañerismo durante el proceso.

A los productores de maní que hicieron posible la investigación con aporte de semillas y suelo de sus cultivos.

A Sully Toledo, por su guía en los aspectos formales de la realización de la tesis.

A nuestros familiares por el apoyo brindado durante toda la carrera.

TABLA DE CONTENIDO

| | Página |
|---|--------|
| PÁGINA DE APROBACIÓN..... | II |
| AGRADECIMIENTOS..... | III |
| LISTA DE CUADROS E ILUSTRACIONES..... | VII |
| | |
| 1. <u>INTRODUCCIÓN</u> | 1 |
| 2. <u>REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</u> | 3 |
| 2.1 CONTEXTO MUNDIAL DE LA PRODUCCIÓN | 3 |
| 2.2 CULTIVO DE MANÍ EN URUGUAY..... | 3 |
| 2.2.1 <u>Actualidad</u> | 4 |
| 2.2.2 <u>Investigaciones</u> | 6 |
| 2.3 CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LA PLANTA | 6 |
| 2.3.1 <u>Morfología y sistemática</u> | 6 |
| 2.3.2 <u>Desarrollo del cultivo</u> | 7 |
| 2.4 DIVERSIDAD GENÉTICA | 9 |
| 2.4.1 <u>Variedades criollas y germoplasma</u> | 9 |
| 2.5 RIZOBIOS | 10 |
| 2.6 SIMBIOSIS RIZOBIO-MANÍ..... | 13 |
| 2.6.1 <u>Fijación biológica de nitrógeno</u> | 13 |
| 2.6.2 <u>Formación de nódulos</u> | 14 |
| 2.6.3 <u>Antecedentes de rizobios en maní</u> | 15 |
| 3. <u>MATERIALES Y MÉTODOS</u> | 16 |
| 3.1 ENSAYO DE MANÍ A CAMPO | 16 |
| 3.1.1 <u>Lugar y período experimental</u> | 16 |
| 3.1.2 <u>Información meteorológica</u> | 17 |
| 3.1.3 <u>Descripción del sitio experimental</u> | 17 |
| 3.1.4 <u>Variedades criollas</u> | 18 |
| 3.1.5 <u>Diseño experimental</u> | 19 |
| 3.1.6 <u>Metodología de conducción del experimento</u> | 19 |
| 3.1.7 <u>Descripción de las características evaluadas</u> | 19 |
| 3.1.7.1 Número de días hasta la emergencia | 20 |

| | | |
|----------|---|----|
| 3.1.7.2 | Hábito de crecimiento | 20 |
| 3.1.7.3 | Flores en tallo principal..... | 21 |
| 3.1.7.4 | Número de ramas primarias | 21 |
| 3.1.7.5 | Número de ramas secundarias..... | 22 |
| 3.1.7.6 | Superficie del tallo | 22 |
| 3.1.7.7 | Tipo de ramificación | 22 |
| 3.1.7.8 | Color del estandarte..... | 23 |
| 3.1.7.9 | Color de la hoja | 24 |
| 3.1.7.10 | Altura del tallo principal | 24 |
| 3.1.7.11 | Ancho de la planta..... | 24 |
| 3.1.7.12 | Pigmentación del tallo..... | 24 |
| 3.1.7.13 | Ancho del folíolo..... | 24 |
| 3.1.7.14 | Largo del folíolo..... | 24 |
| 3.1.7.15 | Peso total de vainas | 24 |
| 3.1.7.16 | Peso promedio de vainas | 25 |
| 3.1.7.17 | Reticulación de la vaina | 25 |
| 3.1.7.18 | Longitud de la vaina..... | 26 |
| 3.1.7.19 | Ancho de vaina..... | 26 |
| 3.1.7.20 | Morfología de la punta de vaina..... | 26 |
| 3.1.7.21 | Tipo de estrangulamiento de vaina..... | 27 |
| 3.1.7.22 | Número de granos por vaina | 28 |
| 3.1.7.23 | Peso total de 10 granos..... | 28 |
| 3.1.7.24 | Largo de grano | 28 |
| 3.1.7.25 | Ancho de grano | 28 |
| 3.1.7.26 | Color de grano..... | 28 |
| 3.2 | AISLAMIENTO DE RIZOBIOS A PARTIR DE PLANTAS DE MANÍ..... | 28 |
| 3.2.1 | <u>Metodología de siembra en macetas</u> | 29 |
| 3.2.2 | <u>Cosecha y aislamiento de nódulos</u> | 30 |
| 3.2.3 | <u>Aislamiento de rizobios</u> | 30 |
| 3.3 | CARACTERIZACIÓN GENÓMICA DE RIZOBIOS | 31 |
| 3.3.1 | <u>Ruptura celular</u> | 31 |
| 3.3.2 | <u>Amplificación del gen del ARNr 16s</u> | 31 |
| 3.3.3 | <u>Electroforesis</u> | 32 |
| 3.3.4 | <u>Preparación para la secuenciación</u> | 32 |
| 3.3.5 | <u>Comparación de secuencias del gen ARNr 16S</u> | 32 |
| 3.4 | MÉTODOS ESTADÍSTICOS | 33 |
| 4. | <u>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</u> | 34 |

| | | |
|-------|--|----|
| 4.1 | CARACTERIZACIÓN DE LAS VARIEDADES DE MANÍ | 34 |
| 4.1.1 | <u>Parámetros poblacionales</u> | 34 |
| 4.1.2 | <u>Descriptores cuantitativos</u> | 35 |
| 4.1.3 | <u>Descriptores cualitativos</u> | 36 |
| 4.2 | CARACTERIZACIÓN DE LAS POBLACIONES DE RIZOBIOS . | 38 |
| 5. | <u>CONCLUSIONES</u> | 41 |
| 6. | <u>RESUMEN</u> | 44 |
| 7. | <u>SUMMARY</u> | 45 |
| 8. | <u>BIBLIOGRAFÍA</u> | 46 |
| 9. | <u>ANEXOS</u> | 51 |

LISTA DE CUADROS E ILUSTRACIONES

| Cuadro No. | Página |
|---|--------|
| 1. Clave fenológica del cultivo de maní..... | 7 |
| 2. Taxonomía de los rizobios | 12 |
| 3. Especies de rizobios asociadas al maní..... | 15 |
| 4. Códigos correspondientes a las variedades criollas evaluadas | 18 |
| 5. Tabla resumen de la siembra en macetas | 29 |
| 6. Valores de media y desvío estándar en descriptores según variedad criolla..... | 35 |
| 7. Moda y número de categorías observadas para los descriptores según variedad criolla..... | 36 |
| 8. Resultados de comparación de secuencias del gen ARNr 16S | 38 |
| | |
| Figura No. | |
| 1. Granja de la Sede Sayago de UdelaR. Facultad de Agronomía (Montevideo, Uruguay)..... | 16 |
| 2. Ubicación del área experimental dentro de la Carta de Suelos 1:40000..... | 18 |
| 3. Tipos de hábito de crecimiento para las plantas de maní..... | 21 |
| 4. Tipos de ramificación en las plantas de maní | 23 |
| 5. Tipos de reticulación de la vaina..... | 25 |
| 6. Tipos de punta de la vaina del maní..... | 26 |
| 7. Tipos de estrangulamiento de la vaina | 27 |

1 INTRODUCCIÓN

El maní es una leguminosa perteneciente al género *Arachis* dentro de la subfamilia Faboideae. Cuando se hace referencia al maní cultivado, se está hablando de la especie *Arachis hypogaea* L. (Bonetto y Pietrarelli, 1986). El género *Arachis* es nativo de América del Sur y contiene 81 especies agrupadas en nueve secciones taxonómicas (Valls y Simpson, 2005). Esta planta se cultiva con el fin de obtener su fruto, el cual crece en forma de vaina subterránea a no más de un metro de la planta madre. El maní es utilizado como una importante fuente de alimento como semilla y para la elaboración de otros alimentos. El mismo posee grandes propiedades nutricionales, se destaca por ser un alimento de gran aporte energético, fuente de proteína, vitaminas, minerales y aceites beneficiosos para la salud del hombre. De todas maneras, no se trata del único uso de la planta, pudiendo ser aprovechado su forraje para la alimentación de ganado vacuno.

En Uruguay, el cultivo de maní se caracteriza por ser una producción con mano de obra familiar realizada en condiciones de tecnología poco desarrollada y una escasa adopción de la mecanización del cultivo por parte de los productores. La mayor parte de la producción se basa en las economías locales comercializando el producto en circuitos cortos. Su cultivo se concentra en dos pequeñas zonas del país, una en el litoral Noroeste del Río Uruguay y otra en el Noreste del departamento de Cerro Largo.¹

Como en el caso de otras plantas de la familia Fabaceae, la planta de maní es capaz de realizar una asociación simbiótica con bacterias del suelo denominadas rizobios. La simbiosis planta-rizobio se realiza mediante la nodulación en las raíces, brindándole la planta un ambiente donde permanecer (protección) y energía en forma de azúcares, mientras que los rizobios fijan el nitrógeno del aire, suministrándole este nutriente esencial a la planta. Esta interacción es de suma importancia considerando lo limitante que puede llegar a ser el nitrógeno en suelo y los requerimientos de la planta, actuando como fertilizante natural.

El último relevamiento nacional sobre *A. hypogaea* se realizó en 1984, en el cual se colectaron 258 variedades criollas que actualmente se encuentran conservadas en el Banco de Germoplasma de la Facultad de Agronomía, y en bancos internacionales como el de Embrapa e ICRISAT. Considerando que han pasado más de 30 años desde este acontecimiento, es esperable que se encuentren algunas diferencias entre el material genético existente en ese entonces en el territorio nacional y el de la actualidad. Además, se trata de semillas que están conservadas hace un largo período de tiempo por lo que su estado puede haberse deteriorado y sería útil la recolección de nuevas semillas. Esto es suficiente para justificar el objetivo de hacer una nueva investigación con el fin de ampliar

¹ Castro, X. s.f. Guardianes y guardianas de semilla de maní en Uruguay. In: Congreso Argentino de Agroecología (2º., 2021, Resistencia). Semillas y agrobiodiversidad. s.p. (en prensa).

la información sobre el estado de conservación y la diversidad de variedades criollas presentes en el territorio nacional.

En este sentido, resulta atractivo realizar un trabajo en el cual se evalúe las plantas de maní a partir del material genético presente en el Uruguay, y así poder conocer sus características y la diversidad que pueda existir entre las variedades criollas y dentro de las mismas.

A su vez, es interesante estudiar los rizobios asociados a las plantas de maní recabando información que puede ser utilizada como insumo para el conocimiento de los microorganismos en el suelo del país, y las especies que realizan asociación simbiótica con el maní.

El objetivo general de este trabajo es estudiar la diversidad de las variedades criollas de maní (*Arachis hypogaea* L.) cultivadas en Uruguay y la diversidad de poblaciones de rizobios asociados a la planta.

Para ello se plantean los siguientes objetivos específicos: caracterizar fenotípicamente las plantas colectadas de variedades criollas de maní; caracterizar molecularmente los rizobios asociados a los cultivos; y ampliar el conocimiento acerca de las poblaciones de rizobios existentes en el territorio nacional.

2 REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 CONTEXTO MUNDIAL DE LA PRODUCCIÓN

El cultivo de maní se realiza en grandes volúmenes en el mundo. La producción mundial de maní ronda las 47 millones de toneladas (2020/21) según USDA (2021). Es un cultivo muy extendido en Asia, y también es muy cultivado en África. En Sudamérica, se destacan las producciones de Argentina y Brasil. En el año 2021, China produjo el 37% del volumen total, seguido de India con el 14% y Nigeria que obtuvo el 8% de la producción mundial. Luego se registraron grandes volúmenes de maní producidos en Estados Unidos (6%), Sudán (4%), Senegal (3%), Myanmar (3%), Argentina (3%), Tanzania (2%) e Indonesia (2%).

Según USDA (2021), el volumen total exportado en el año 2021 fue de casi 4,5 millones de toneladas (2020/21). Argentina fue el máximo exportador a nivel mundial, completando 980 mil toneladas exportadas (22% de las exportaciones a nivel mundial). India exportó con un volumen muy cercano (21%), seguidos de China y Senegal, presentando un 11% y 9% respectivamente. En el séptimo lugar se encontró Brasil, que exportó unas 300 mil toneladas de maní.

En cuanto a los máximos importadores de maní, el USDA (2021) colocó a la Unión Europea superando el millón de toneladas de maní y representando el 25% de las importaciones a nivel mundial. China se ubicó segundo, importando un volumen que llega al millón de toneladas. El tercer lugar lo ocupó Indonesia, representando un 11% de las importaciones a nivel mundial.

2.2 CULTIVO DE MANÍ EN URUGUAY

El maní es cultivado principalmente sobre el Noreste del territorio nacional. Se trata de una producción intensiva de pequeña escala familiar. Tiene una rentabilidad baja y carece de grandes oportunidades de mercado. En Uruguay fue históricamente cultivado para autoconsumo, utilización de su forraje para mantenimiento de vacas lecheras y su venta a mercado interno (Millot, 1985). Con respecto al uso industrial, anteriormente se utilizaba para la extracción de aceites y subproductos, pero esta industria ha quedado relegada en Uruguay y en la región (Pereira, 2006). En el año 1946 se instaló en el departamento de Rivera una fábrica destinada a la producción de aceite de maní llamada Mandubí S.A. la cual dio origen al nombre del pueblo Mandubí (maní en guaraní), pero los problemas de comercialización de los productos llevaron al cierre de la fábrica a comienzos de la década del 60.

Este cultivo suele ser practicado por pequeños productores de 10 a 60 hectáreas, con un área que no supera las 10 hectáreas sembradas. Generalmente están ubicados tanto

en los cinturones de las ciudades, como en pequeñas comunidades (Pereira, 2006). Se caracteriza por ser una producción poco mecanizada, realizándose la preparación del suelo mediante la utilización de tracción animal, y la cosecha de forma manual. Su producción bajo estas carencias tecnológicas se traduce en costos de inversión muy bajos, pero a su vez no permite la producción a gran escala.

En cuanto a las labores realizadas en el proceso de producción del maní, se comienza con el laboreo del suelo (generalmente a base de tracción animal) en el mes de octubre. Le sigue la plantación, realizada a fines de octubre/principios de noviembre en manos de trabajo familiar. La cosecha se realiza en abril/mayo, con actividad consiguiente el despenque (que consiste en desprender el fruto de la planta mediante pequeños golpes). En esta etapa se debe evitar que el maní sufra deterioro por las condiciones ambientales, es una actividad que se tiene que realizar con rapidez para mantener la calidad del producto. En este orden, se debe recurrir en muchos casos a mano de obra asalariada para esta etapa del proceso. Por último, se realiza la selección de semillas que darán lugar al próximo ciclo del cultivo (Quintero et al., 2012). Al no existir semilla comercial disponible esta selección es realizada con variedades criollas.

En cuanto al origen del cultivo en el Uruguay, si bien no hay información del uso de *A. hypogaea* en Uruguay previo al siglo XX, en Rio Grande do Sul fue utilizado por los Guaraníes hace más de 2000 años (Rocha y Valls, 2017). Según lo relevado por Pereira (2006), los registros que datan del año 1920 totalizaron 900 hectáreas bajo el cultivo de maní; en 1948 se llegan a los máximos históricos en términos de área sembrada abarcando 13300 hectáreas del territorio; se ha registrado un descenso paulatino en el área de siembra desde los años 1962/63, resultando en la zafra del año 2002 un total de área sembrada de 300 hectáreas. El autor además comparte los rendimientos de la producción, aumentando de 500 kg/ha (año 1920) hasta 1300 kg/ha en las últimas zafras. El área sufrió un descenso mientras que los rendimientos se incrementaron con el tiempo.

Según Haubman (2021), en el Uruguay se importan alrededor de 500 toneladas de maní anualmente, y sostiene que plantando unas 400 hectáreas se podría lograr abastecer al mercado interno.

2.2.1 Actualidad

En cuanto al maní cultivado en Uruguay, su producción no representa un volumen significativo. Según MGAP. DIEA (2011), 19 explotaciones realizaron el cultivo de maní en 2011, y la actividad representó una superficie sembrada de tan solo 68 hectáreas.

Según Pereira (2006), en los últimos años la industria ha trabajado en un cambio en el concepto que se tiene sobre el destino del maní, pasando a ser considerado actualmente como un fruto seco para consumo humano directo al que se denomina maní “tipo confitero”, y pasando a un segundo plano secundario su uso como materia prima para la extracción de aceite. En cuanto al potencial desarrollo del cultivo en el Uruguay, existe incertidumbre debido a un mercado interno muy acotado. Además, si se considera la escala de producción, la tipificación y costos, se hace difícil pensar en grandes exportaciones de maní. El autor agrega que por lo tanto sólo se puede esperar un incremento de la productividad del área actual adoptando un paquete tecnológico que disminuya el costo por kilogramo de producto cosechado por parte de los productores, aumentando su rentabilidad. Una alternativa para la expansión y desarrollo de este cultivo sería integrando los sistemas de producción de pequeños productores agrícola-ganaderos, con doble propósito (grano y forraje), fortaleciendo una rotación sustentable con otros cultivos y/o pasturas (Pereira, 2006).

Con relación a las últimas novedades del cultivo de maní en territorio uruguayo, en el año 2017 se realizó la primera exportación de maní. Esto surgió como resultado del planteo de productores de maní de los pueblos de Isidoro Noblia y Sarandí de Barceló en Cerro Largo al Consejo de Ministros de julio 2017, debido a las dificultades que presentaban estos productos para comercializar el maní. A partir de ello, tras la negociación de las partes, se concluyó en la primera exportación de 20 toneladas de maní uruguayo, teniendo Chile como destino (Montevideo Portal, 2017). Con respecto a este acontecimiento, Vilaró² aporta que *“La empresa INDELMA SA de Córdoba fue la que llevo a cabo el cultivo para evaluar la aptitud del cultivo comercial mecanizado, utilizando una variedad del tipo Virginia Runner. Cultiva 13.000 has en Argentina y 1.000 has en Venezuela, exportando a más de 60 países.”*

De acuerdo a la producción de la zafra del año 2020, un artículo periodístico de La Voz de Melo (2020) resalta la preocupación de productores de maní ubicados en chacras en el radio de Isidoro Noblia, Cuchilla de Melo y San Diego. La situación de la zafra no relevó ganancias y los productores señalan a la sequía ocurrida como un factor determinante. Revelan un rendimiento obtenido alrededor de 600 kg/ha y expresan inquietud por los años venideros. Según Castro¹, el cultivo de maní en el Uruguay compete por el recurso tierra ante otras producciones como la forestación y la agricultura, siendo uno de los factores más limitantes ante la posibilidad de desarrollo del cultivo a mayor escala.

² Vilaró, F. 2022. Com. personal.

2.2.2 Investigaciones

La escasa información y conocimiento sobre el cultivo de maní en Uruguay dieron lugar a los primeros trabajos de investigación, que fueron registrados alrededor de 1920 llevados a cabo por Boerger y Henry, quienes desarrollaron en La Estanzuela líneas de gran importancia en el mejoramiento a nivel mundial (Alza et al., 1989).

Posteriormente, a comienzo de la década de los 70, se retomaron las investigaciones en maní cultivado en la Estación Experimental del Norte – Tacuarembó. Estas investigaciones permitieron avanzar en el conocimiento acerca de las principales limitantes agronómicas que presentaba el cultivo. La investigación estuvo prácticamente detenida desde fines de los 70 hasta 1984 cuando se comenzaron a hacer ensayos en la región litoral del país. En los años siguientes se realizó por primera vez colecta y caracterización de variedades criollas por parte de la Facultad de Agronomía (Alza et al., 1989). Se confirmó la existencia de una gran variabilidad genética en el material de maní en mano de productores Uruguayos y se distinguieron dos grupos grandes bien definidos: líneas con fruto chico (una o dos semillas) y líneas con fruto grande (tres, cuatro o cinco semillas).

2.3 CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LA PLANTA

2.3.1 Morfología y sistemática

El maní cultivado es una planta herbácea. El eje central de la planta siempre es erecto, y según la orientación de sus ramas primarias se le adjudica un tipo de porte. Estos pueden ser erecto, semierecto o rastrero. Presenta un sistema radicular constituido de una raíz principal y raíces laterales originadas a partir de la misma. Muy frecuentemente se pueden encontrar nódulos en las raíces, resultado de una simbiosis con rizobios para la fijación de nitrógeno atmosférico (Giambastiani, 2000).

El eje central puede presentar inflorescencias o no y según esta característica se pueden distinguir los tipos botánicos. Los tipos Valencia y Español sí las presentan, y no es así en el caso del tipo Virginia. Cuando a partir de los nudos sale a una rama se le llama nudos vegetativos, y nudos reproductivos cuando se forman inflorescencias en los mismos (Giambastiani, 2000). Según la distribución de estos nudos, existen distintos tipos de ramificación: secuencial, cuando presenta una serie de nudos reproductivos seguidos de nudos vegetativos; alternada, cuando luce de dos nudos vegetativos seguidos de dos reproductivos y así repetidamente; irregular con flores en el tallo principal; e irregular sin flores en el tallo principal (IBPGR, 1992).

Giambastiani (2000) detalla que la distribución de los frutos en el suelo puede presentar un patrón resultante de los distintos portes y sistemas de ramificación. Por ejemplo, los genotipos de porte erecto y de ramificación secuencial distribuyen sus frutos en el suelo concentrados en torno al eje principal de la planta, mientras que los genotipos rastreros y de ramificación alternada tendrán sus frutos esparcidos a mayor distancia del centro de la planta.

Las hojas son estipuladas, y compuestas generalmente por cuatro folíolos. Presenta inflorescencias simples con flores generalmente de corola amarilla. Cuando se produce la fecundación, comienza la formación del “clavo” que lleva en su extremo el o los óvulos fecundados. Este clavo toma dirección hacia el suelo, donde se entierra y da lugar al fruto (Giambastiani, 2000).

Se trata de frutos indehiscentes, de 1 a 5 semillas protegidas por una cubierta (pericarpio) formada por tres capas de tejidos: exo, meso y endocarpo. En etapas tempranas de su desarrollo los frutos pueden absorber agua y nutrientes, entre estos principalmente Ca. Presenta semillas alargadas o redondeadas, con un tegumento muy delgado y posee muy expuesto el extremo correspondiente a la radícula, lo cual predispone a la ocurrencia de daño mecánico. Con respecto al peso de la semilla, este puede variar entre 0.3 y 1.5 g (Giambastiani, 2000).

2.3.2 Desarrollo del cultivo

Durante el ciclo del cultivo de maní se pueden distinguir distintos períodos caracterizados por la generación de determinados órganos y según el patrón de partición de los fotoasimilados (Giayetto et al., 2017). Boote (1982) propone mediante la asignación de una letra correspondiente a los periodos vegetativo (V) y reproductivo (R), seguido de un número que caracteriza a cada uno de los estadios. Es una descripción basada en la observación macroscópica de eventos vegetativos y reproductivos que se suceden durante la vida de la planta (Cuadro 1). A partir de cierta edad de la planta, el período vegetativo y el reproductivo pueden darse al mismo tiempo debido al alto grado de indeterminación que posee la arquitectura de la planta en esta especie (Giayetto et al., 2017).

Cuadro No. 1. Clave fenológica del cultivo de maní

| Clave alfanumérica | Denominación de la etapa | Descripción |
|--------------------|--------------------------|---|
| Ve | Emergencia | Cotiledones cerca de la superficie del suelo y plántula mostrando alguna parte. |

| | | |
|-----------|------------------------------------|--|
| V0 | Cotiledonar | Cotiledones abiertos y horizontales totalmente desplegados en el nudo cotiledonar, por encima de la superficie del suelo. |
| V1 | Primera hoja tetrafoliada | Primer nudo desarrollado sobre el eje principal con su hoja tetrafoliada desplegada y folíolos horizontales. |
| Vn | “n” hoja tetrafoliada | “n” nudos desarrollados sobre el eje principal con o sin sus hojas tetrafoliadas desplegadas y folíolos horizontales. |
| R1 | Estado de floración | Una flor abierta en algún nudo. |
| R2 | Inicio de formación de un clavo | Un clavo (ginóforo) elongándose. |
| R3 | Inicio de formación de fruto | Un clavo introducido en el suelo con el extremo (ovario) de un diámetro igual a dos veces el diámetro del clavo. |
| R4 | Fruto completamente desarrollado | Un fruto completamente desarrollado, con las dimensiones características del cultivar |
| R5 | Inicio de formación de semillas | Un fruto completamente desarrollado, con crecimiento visible de los cotiledones de la semilla al efectuar un corte transversal del fruto (pasada la fase de endosperma líquido). |
| R6 | Semilla completamente desarrollada | Un fruto con semillas que llenan las cavidades de éste. |
| R7 | Inicio de madurez | Un fruto mostrando coloración canela o marrón en la cara interna del pericarpio en el 50% de las plantas del cultivo. |
| R8 | Madurez de cosecha o arrancado | Igual a R7 dependiendo el porcentaje de plantas del cultivar sembrado: 70 a 75% en tipos Virginia y Español, 80% en tipo Valencia. |

| | | |
|-----------|---------------------|---|
| R9 | Frutos sobremaduros | Un fruto no dañado mostrando una coloración anaranjada de la testa y/o deterioro del clavo. |
|-----------|---------------------|---|

Fuente: adaptada de Boote por Giayetto et al. (2017).

2.4 DIVERSIDAD GENÉTICA

Según Krapovickas, citado por Bonetto y Pietrarelli (1986), *Arachis hypogaea* se divide en dos subespecies, cada una con dos tipos botánicos distintos:

- 1) Subespecie *hypogaea*
 - a) var. *hypogaea* (tipo virginia, con variedades de porte erecto y rastrero)
 - b) var. *hirsuta* (tipo peruano)
- 2) Subespecie *fastigiata*
 - a) var. *fastigiata* (tipo Valencia)
 - b) var. *vulgaris* (tipo español)

2.4.1 Variedades criollas y germoplasma

No existe una definición estricta de acuerdo a la literatura en cuanto al concepto de variedades criollas o locales. Camacho Villa et al. (2005), identifican seis características que definen a las variedades criollas:

- son genéticamente diversas;
- son reconocibles por sus características morfológicas, de uso o adaptación;
- su origen histórico, son el resultado de procesos de varios ciclos de multiplicación y selección en una determinada región, tanto por una familia de generación en generación, o por grupos de agricultores;
- no son el resultado final de programas formales de mejoramiento;
- su adaptación local;
- su asociación a sistemas tradicionales de producción.

Los diversos autores coinciden en que las variedades criollas son el resultado de la selección de los agricultores, sus formas de producción y del ambiente en que son cultivadas.

De acuerdo con INASE (2014), la variedad criolla se define de la siguiente manera: *“una población local seleccionada y mantenida por agricultores en una determinada localidad del Uruguay. La variedad criolla puede haber partido de cultivares registrados o no, cuya historia de mantenimiento varietal y adaptación agronómica a las condiciones locales de producción es conocida. La variedad criolla debe diferenciarse claramente del cultivar original y de cualquier otro cultivar notoriamente conocido”*.

Por otra parte, De Almeida Silva et al. (2021), destacan la importancia de las variedades criollas en el desarrollo sostenible de los sistemas agrícolas y las definen como las variedades manejadas y reproducidas por agricultores familiares, así como agricultores de diferentes perfiles que practican la agricultura familiar.

La existencia y propagación de las variedades criollas, amplían el germoplasma de una especie, obteniendo mayor diversidad genética. Un banco de germoplasma es un reservorio de propágulos que permite conservar la diversidad genética de un cultivo. Sirven para localizar, recolectar y almacenar los propágulos de especies que se consideran útiles para el ser humano. Generalmente se conservan las semillas guardadas en sobres en depósitos a baja temperatura, con el fin de mantener la viabilidad de la semilla (Condón y Rossi, 2018). Además, según FAO (2014), los bancos de germoplasma sirven como un nexo entre el pasado y el futuro garantizando una disponibilidad continua de los recursos fitogenéticos para poder desarrollar investigaciones, y para la reproducción y mejora de material genético en busca de sistemas agrícolas sustentables. Y en este sentido, la organización posee un conjunto de normas para la conservación del material de propagación de una manera adecuada.

El germoplasma de las variedades criollas tiene un valor intrínseco, como un elemento cultural e identitario de los agricultores, y un valor de uso, como producto comercial, alimento, forraje, entre otros usos en el predio, y como fuente de variabilidad para el mejoramiento convencional por su adaptación a las condiciones agroecológicas locales y características agronómicas favorables (Galván et al., 2015).

2.5 RIZOBIOS

Los rizobios son bacterias del suelo capaces de infectar a las leguminosas e inducir la formación de nódulos en las raíces, capaces de fijar el nitrógeno atmosférico (CIAT, 1987). Son α y β proteobacterias habitantes del suelo que han adquirido genes

relacionados con la capacidad de asociarse en simbiosis con raíces de plantas leguminosas para formar nódulos fijadores de N_2 , por transferencia horizontal (MacLean et al., 2007). Son bacilos Gram negativos, de un largo entre 1,2 y 3,0 micras y un ancho 0,5 a 0,9 micras. Generalmente son móviles en el comienzo del ciclo por la presencia de flagelos, pudiendo presentar un flagelo polar o subpolar o de dos a seis flagelos peritricos (Garabato, 2018).

Son organismos aerobios, pero pueden crecer bajo condiciones de muy baja concentración de oxígeno. No forman esporas. Tras algunos cambios morfológicos, fisiológicos y bioquímicos que suceden cuando se establecen en las células del nódulo, los rizobios se transforman en células pleomórficas, de formas muy irregulares, Estas células se denominan bacteroides, que son de forma irregular, no tienen flagelo, no se dividen y son capaces de la fijación biológica de nitrógeno. Cuando se siembran en un medio de cultivo, estas células retoman sus propiedades básicas como bacilos y no fijadores de nitrógeno (Frioni, 2006). De todas maneras, no todos lo logran y depende del tipo de rizobio y planta a la que infectan. Según el grado de diferenciación que alcanzan los bacteroides, algunos no pueden volver a cultivarse. En general, hay algunas bacterias no diferenciadas dentro del nódulos que son las que se recuperan en el cultivo.³

Los rizobios son habitantes comunes en el suelo y realizando una utilización eficiente de los nutrientes disponibles, tienen la capacidad de sobrevivir ante la competencia frente a otros microorganismos del suelo. Los rizobios no fijan nitrógeno mientras se encuentran libres en el suelo, lo cual dificulta la detección de su presencia en el suelo al no poder distinguirlo del resto de la población de bacterias. Por lo tanto, para reconocer de la presencia de esta bacteria en el suelo se induce la formación de nódulos y se aíslan los rizobios a partir de ellos (Frioni, 2006).

De acuerdo a sus propiedades culturales, los rizobios se pueden dividir en dos grandes grupos:

- de crecimiento rápido: tienen un tiempo de generación entre 3 y 4,5 horas, acidifican el medio y liberan una gran cantidad de polisacáridos. Por ejemplo, el género *Rhizobium*.
- de crecimiento lento: un tiempo de generación más largo que varía entre 6 y 8 horas, alcalinizan el medio y producen menos polisacáridos. Por ejemplo, el género *Bradyrhizobium*.

El género que se encuentra más asociado a las plantas de maní es el de rizobios de crecimiento lento, lo que no implica que el género *Rhizobium* y los rizobios de los otros géneros de crecimiento rápido no sean capaces de establecer una asociación simbiótica con el maní (Angelini et al., 2017).

³ Platero, R. 2022. Com. personal.

Los géneros de rizobios descritos hasta el año 2001 se agrupaban únicamente en la clase de las α -proteobacterias, pero se identificaron bacterias noduladoras de leguminosas pertenecientes a la clase β -proteobacteria, que se denominaron β -rizobios (Moulin et al., 2001). Se utilizan los términos de α y β rizobios para referirse a las bacterias fijadoras de nitrógeno dentro de las clases de proteobacteria, ya que no todos géneros clasificados dentro de la clase poseen esa capacidad (Chen et al., 2003).

En la actualidad, los rizobios abarcan un grupo de bacterias diversas desde el punto de vista taxonómico, metabólico y genético. En los últimos años, su clasificación se ha vuelto más compleja debido al rápido incremento en las especies descritas. A pesar de que la taxonomía de los rizobios es continuamente revisada por el International Committee on Systematics of Prokaryotes Subcommittee for the Taxonomy of Rhizobium, la clasificación actual, basada en criterios moleculares, presenta 15 géneros de rizobio dentro de las α -proteobacteria y tres géneros dentro de las β -proteobacteria (Weir, 2016).

Cuadro No. 2. Taxonomía de los rizobios

| Clase | Familia | Géneros |
|---|---------------------|---|
| α-proteobacteria | Rhizobiaceae | <i>Rhizobium</i> , <i>Sinorhizobium/Ensifer</i> , <i>Shinella</i> , <i>Allorhizobium</i> , <i>Pararhizobium</i> , <i>Neorhizobium</i> |
| | Bradyrhizobiaceae | <i>Bradyrhizobium</i> |
| | Hyphomicrobiaceae | <i>Devosia</i> |
| | Phyllobacteriaceae | <i>Mesorhizobium</i> , <i>Phyllobacterium</i> , <i>Aminobacter</i> |
| | Brucellaceae | <i>Ochrobactrum</i> |
| | Methylobacteriaceae | <i>Methylobacterium</i> , <i>Microvirga</i> |
| | Xanthobacteraceae | <i>Azorhizobium</i> |
| β-proteobacteria | Burkholderiaceae | <i>Paraburkholderia</i> , <i>Cupriavidus</i> , <i>Trinckia</i> |

Fuente: Weir (2016).

La gran mayoría de los géneros de rizobios pertenecen a la clase α -proteobacteria y se ubican en el orden Rhizobiales, mientras que los presentes en la clase β -proteobacteria pertenecen al orden Burkholderiales.

El aislamiento, caracterización y selección de cepas nativas de rizobios de la región puede llevar a una potencial fuente de inoculante biológico con aplicaciones en la agricultura (Di Bárbaro, 2011).

2.6 SIMBIOSIS RIZOBIO-MANÍ

Como se mencionó anteriormente la planta de maní establece una relación simbiótica con los rizobios mediante la formación de nódulos en la raíz que permiten a la planta la obtención del nitrógeno presente en el aire.

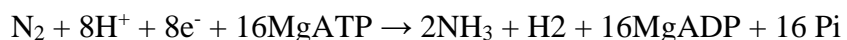
2.6.1 Fijación biológica de nitrógeno

El nitrógeno es uno de los elementos más abundantes en la naturaleza encontrándose en la atmósfera (aproximadamente el 78% de la atmósfera es N_2), la biomasa y el suelo. Es un nutriente esencial de las plantas, siendo el cuarto elemento más abundante, formando parte de moléculas importantes como los son los aminoácidos, proteínas, ácidos nucleicos, hormonas y clorofilas. Por lo tanto, se trata un elemento clave para el desarrollo y crecimiento de las plantas (Aparicio-Tejo et al., 2013). En el suelo, el nitrógeno puede ser absorbido por las plantas principalmente bajo la forma de nitrato (NO_3^-) y amonio (NH_4^+), pero la principal entrada del nitrógeno al ambiente del suelo se encuentra en el proceso de fijación biológica de nitrógeno (Buchanan et al., 2015).

Existe una gran variedad de organismos procariotas capaces de realizar este proceso, los cuales son clasificados como organismos diazótrofos. Es un proceso que demanda una gran cantidad de energía, la cual puede ser obtenida a partir de la fotosíntesis ya sea directamente (como en el caso de las cianobacterias) o indirectamente mediante la simbiosis con la planta (CIAT, 1987). Es decir, la FBN puede ser realizada por organismos procariotas que se encuentran en vida libre como en asociación simbiótica con algunas plantas.

Este proceso es posible debido a la enzima catalizadora de la reacción, conocida como la enzima nitrogenasa, que reduce el nitrógeno de N_2 a NH_3 . Al tratarse de un proceso muy costoso energéticamente, su síntesis y actividad se encuentra regulada (Izquierdo y Nusslein, 2006).

La fijación biológica de nitrógeno se lleva a cabo por la enzima nitrogenasa bajo la siguiente reacción:



Por otro lado, la fijación biológica del nitrógeno atmosférico mediante el uso de inoculantes es considerada una biotecnología muy económica y amigable ecológicamente, ya que reduce costos por disminución en el uso de fertilizantes nitrogenados y por lo tanto también se disminuye la contaminación que suelen generar estos agroquímicos en las aguas superficiales y subterráneas (Di Bárbaro et al., 2011).

2.6.2 Formación de nódulos

La característica más notable de los rizobios, es la simbiosis que puede realizar con las leguminosas. Esta asociación simbiótica se caracteriza por la formación de nódulos en la raíz. Estos nódulos son estructuras especializadas que se desarrollan como resultado de un diálogo molecular entre los rizobios y las plantas (Gibson, 2008) y será donde las bacterias realizarán la fijación biológica de nitrógeno.

La formación de los nódulos fijadores de nitrógeno en la mayoría de las leguminosas por parte de cepas de rizobios comprende una serie de eventos complejos que comienza a nivel de la rizosfera, mediante el intercambio de señales como los son los flavonoides de las plantas y los factores Nod de los rizobios. Luego el rizobio se adhiere al pelo radicular. Después este comienza a curvarse y le sigue un hilo de infección que le permite colonizar las células del parénquima cortical. A partir de ello surge la formación del nódulo (Gutiérrez Sena, 2017).

De todas maneras, en el caso del maní, la entrada de los rizobios se da a través de un daño epidérmico de la raíz, representando este un modo ancestral de infección (Gutiérrez Sena, 2017). Este mecanismo involucra la invasión intracelular del tejido de la raíz y se produce en la base de las raíces laterales o adventicias, a nivel de corteza. La infección sucede entre la célula epidérmica y la célula basal del pelo radical axilar en la raíz lateral. Luego ocurre la colonización tras una serie de eventos que indican la infectividad. En maní se da con la existencia de un pelo radical emergente junto con una célula basal de mayor tamaño, al mismo tiempo que emerge una raíz lateral. La gran diferencia respecto a la vía de infección respecto a la mayoría de las leguminosas es la ausencia de un hilo de infección (Angelini et al., 2017).

La mayoría de la información disponible sobre estos procesos provienen de estudios sobre la nodulación de α -rizobios, aunque se cree que la estrategia empleada por los β -rizobios es similar debido al reporte de presencia de compuestos en común en el proceso (Crocì, 2020).

2.6.3 Antecedentes de rizobios en maní

Los estudios realizados sobre las especies de rizobios capaces de nodular maní son relativamente escasos. Angelini et al. (2017), recabaron información de diversos autores que llevaron a cabo estudios en Argentina, Canadá, Camerún, India, Marruecos y Sudáfrica.

La diversidad de especies de rizobios obtenidos a partir de plantas de maní cultivadas alrededor del mundo es muy amplia, pero el género tradicionalmente asociado a la formación de nódulos en las plantas de maní es de *Bradyrhizobium*, que son de crecimiento lento. Estas bacterias también son capaces de establecer una relación simbiótica en cultivos de gran importancia económica como la soja y el poroto (Angelini et al., 2017).

Cuadro No. 3. Especies de rizobios asociadas al maní

| Lugar | Especies |
|------------------|---|
| China | <i>Bradyrhizobium liaoningense</i> , <i>B. japonicum</i> , <i>B. yuanmingense</i> , <i>B. lablabi</i> , <i>B. arachidis</i> |
| España | <i>Bradyrhizobium canariense</i> |
| Argentina | <i>Bradyrhizobium yuanmingense</i> , <i>B. iriomotense</i> , <i>Rhizobium giardinii</i> y <i>R. tropici</i> |
| Marruecos | <i>Rhizobium huautlense</i> , <i>R. galegae</i> |

Fuente: Angelini et al. (2017)

3 MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizaron dos ensayos independientes. Para la caracterización de las variedades criollas de maní se llevó a cabo un ensayo con parcelas de maní a campo. Mientras que para la caracterización de los rizobios se sembraron semillas en macetas en invernáculo.

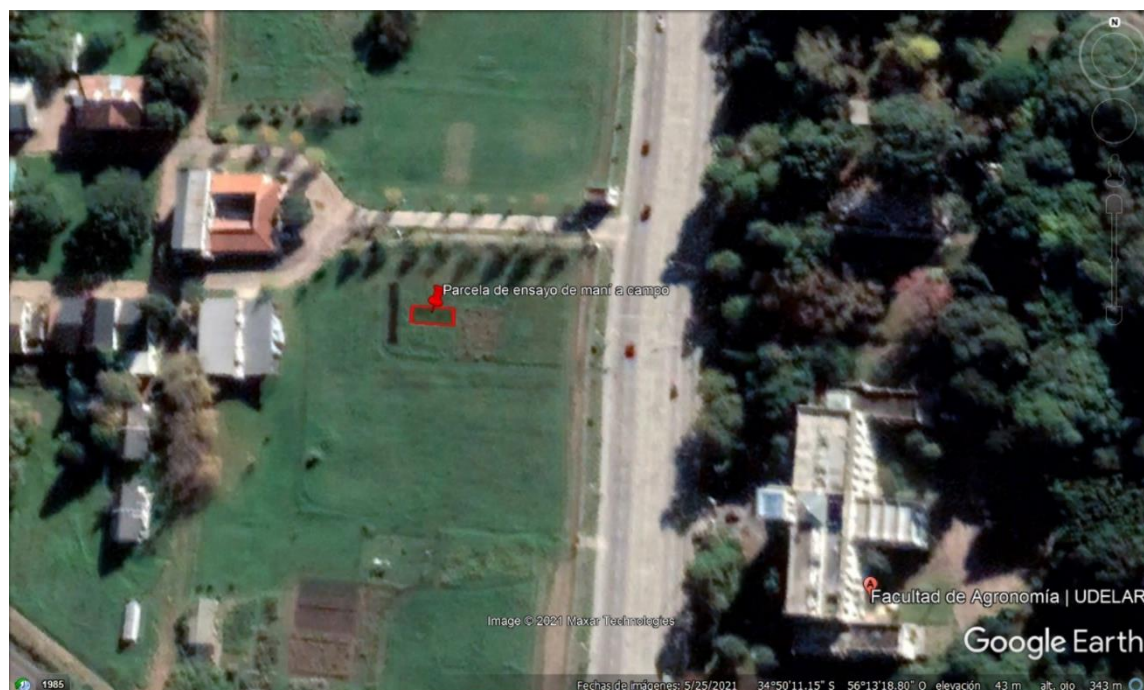
3.1 ENSAYO DE MANÍ A CAMPO

Se trató de un ensayo para la caracterización fenotípica de las variedades criollas conservadas in situ on farm por distintos productores.

3.1.1 Lugar y período experimental

El trabajo fue realizado en el predio Granja de la Sede Sayago de UdelaR. Facultad de Agronomía (Montevideo, Uruguay). El ensayo se localizó sobre una parcela del predio, ubicada en $34^{\circ}50'10.79''$ S / $56^{\circ}13'20.62''$ O. Se desarrolló durante el período comprendido entre el 30 de noviembre de 2020 y 5 de mayo de 2021.

Figura No. 1. Granja de la Sede Sayago de UdelaR. Facultad de Agronomía (Montevideo, Uruguay)



Fuente: imágenes satelitales extraídas de Google Earth.

3.1.2 Información meteorológica

Uruguay presenta un clima templado a subtropical (Durán, 1985), con temperaturas medias anuales de 17,7°C, variando desde 19,8°C en la zona Noroeste a 16,6 °C en la costa Sur del país (Castaño et al., 2011). Las temperaturas medias más altas ocurren en enero y febrero (22,6 °C) y las más bajas en junio y julio (12,9 °C).

Los valores medios de precipitación acumulada anual se sitúan entre 1200 y 1600 mm, con un gradiente incremental de Suroeste a Noreste. Las precipitaciones medias suelen ser más o menos uniformes durante el año, pero existe una gran variabilidad entre años (Castaño et al., 2011).

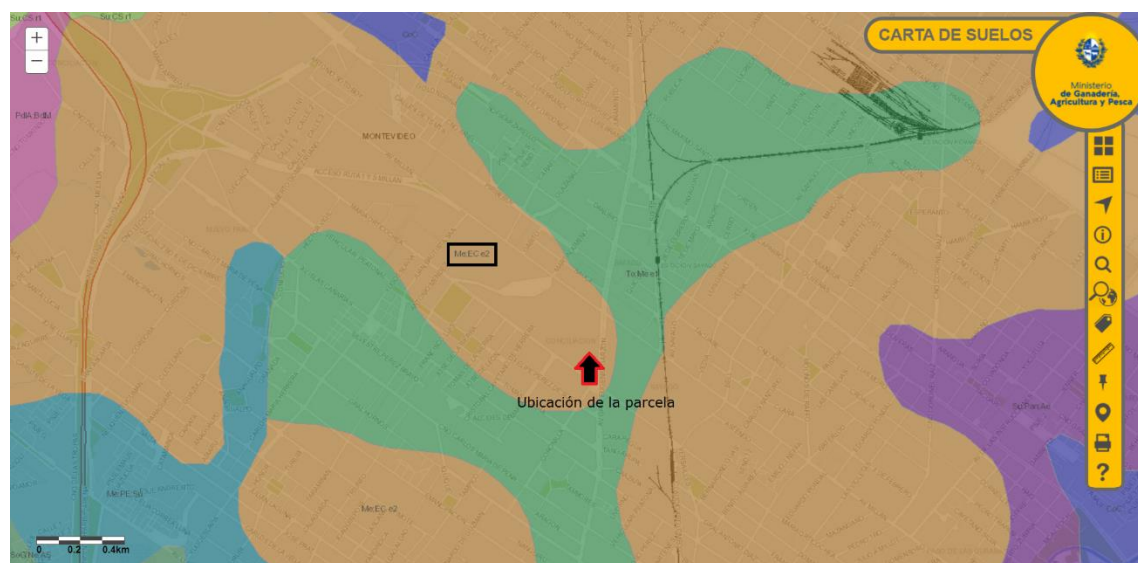
La Estación Agrometeorológica Sayago ubicada en 34°50'13" S / 56°13'21" W y a una altitud de 30 m, con medidas durante los años 2011 y 2017 arroja una temperatura media anual de 17°C y temperaturas medias más altas de 23,9°C y las más bajas de 10°C. La humedad relativa promedio es de 76,8%, con medias máxima en 87,7% y las mínimas de 65,6%. Las precipitaciones anuales promedio en ese lapso de tiempo fueron de 1203 mm.

3.1.3 Descripción del sitio experimental

Según la Carta de suelos (MGAP. DGRN, 2020), el área experimental se encuentra sobre la unidad de mapeo "Me; EC e2", que corresponde a un complejo indiferenciado de suelos integrado por las series Melilla (Me) y El Colorado (EC), con suelos que presentan un grado de erosión moderado (e2).

Los suelos dominantes, correspondientes a la serie Melilla, son Brunosoles Éútricos Típicos, de textura limo-arcillosa. En asociación con estos se encuentran Brunosoles Éútricos Lúvicos, de textura limo-arcillosa, característicos de la serie El Colorado.

Figura No. 2. Ubicación del área experimental dentro de la Carta de suelos 1:40000



Fuente: MGAP. DGRN (2020).

3.1.4 Variedades criollas

El experimento consistió en evaluar 6 variedades criollas de maní colectadas en el país por Ximena Castro en el marco del Proyecto ANII FCE 2019_1_156157. Se colectaron semillas de *Arachis hypogaea* cultivadas en diferentes localidades del país en los departamentos de Paysandú (4), Río Negro (1) y Artigas (1).

Para cada una de las variedades se le asignó un código que permite identificarla de manera característica: según su localidad, la persona que entrevistó al productor y el número de entrevista en la cual se realizó la colecta (Cuadro 4).

Cuadro No. 4. Códigos correspondientes a las variedades criollas evaluadas

| Código de entrevista | Departamento | Localidad |
|----------------------|--------------|-------------|
| RNXC02 | Río Negro | Algorta |
| PAXC03 | Paysandú | Santa Kilda |
| PAXC04 | Paysandú | Cerro Chato |
| PAXC05 | Paysandú | Cerro Chato |
| PAXC07 | Paysandú | Orgoroso |
| ARXC09 | Artigas | Guayuvirá |

3.1.5 Diseño experimental

La instalación del ensayo consistió en la plantación de 6 filas, una fila por cada variedad y con una distribución aleatoria de las mismas. Cada fila contenía un total de 50 plantas. En los bordes se instalaron filas de plantas de maní como testigo y protección del cultivo.

3.1.6 Metodología de conducción del experimento

Se sembraron 50 semillas por fila con el fin de obtener una implantación considerable para el ensayo. Luego se ralearon algunas plantas para aumentar la distancia entre plantas, disminuyendo la competencia entre ellas. En esta instancia se buscó mantener un número aproximado de 20 plantas por fila, de las cuales 10 serían evaluadas fenotípicamente. Estas 10 plantas fueron identificadas para cada fila de manera de poder realizar su seguimiento a lo largo del ciclo del cultivo. Se realizó un mantenimiento periódico mediante desmalezamiento de la parcela y el riego de las plantas del ensayo. No se aplicó herbicida, fungicida, insecticida, ni fertilizante.

3.1.7 Descripción de las características evaluadas

Para la caracterización fenotípica de las plantas de maní se utilizaron descriptores cualitativos y cuantitativos del IBGPR. ICRISAT (1992), bancos internacionales de germoplasma que tienen un compromiso con la conservación de los recursos genéticos. Se registraron las características de cada variedad criolla durante distintos estados fenológicos de las plantas del ensayo y otros descriptores luego de la cosecha para la posterior caracterización de las vainas y granos.

Los descriptores registrados durante los meses de enero-abril en la etapa de ensayo a campo fueron: número de días hasta emergencia, hábito de crecimiento, flores en tallo principal, número de ramas primarias, número de ramas secundarias, superficie del tallo, tipo de ramificación, color del estandarte, color de la hoja, altura del tallo principal, ancho de planta, pigmentación del tallo, ancho y largo del folíolo. En este caso las mediciones corresponden a 10 plantas por fila, debidamente identificadas en el ensayo.

Luego de la cosecha, a partir de la observación de las vainas se registraron los siguientes descriptores: reticulación de la vaina, longitud de la vaina, ancho de vaina, peso de vaina, morfología de la punta y tipo de estrangulamiento. Estos descriptores se realizaron a partir de 5 vainas por planta tomadas al azar, procurando que estén completas y sanas. En esta instancia también se registró el peso total de las vainas de cada planta.

Al culminar el registro de estos descriptores se procedió a la caracterización de los granos, registrando los siguientes parámetros: peso total de 10 granos, largo de grano, ancho de grano y color de grano. Esta instancia se aprovechó para realizar un registro de la cantidad de granos de las vainas muestreadas en la etapa anterior (número de granos por vaina). Los granos utilizados para la descripción de estos parámetros fueron los resultantes de las vainas en cuestión, aunque de ser necesario se tomaron granos pertenecientes a vainas que no fueron muestreadas, con el fin de llegar a 10 granos.

A efecto de analizar las características evaluadas se le otorgó un acrónimo a cada uno de los descriptores (ver Anexo 1).

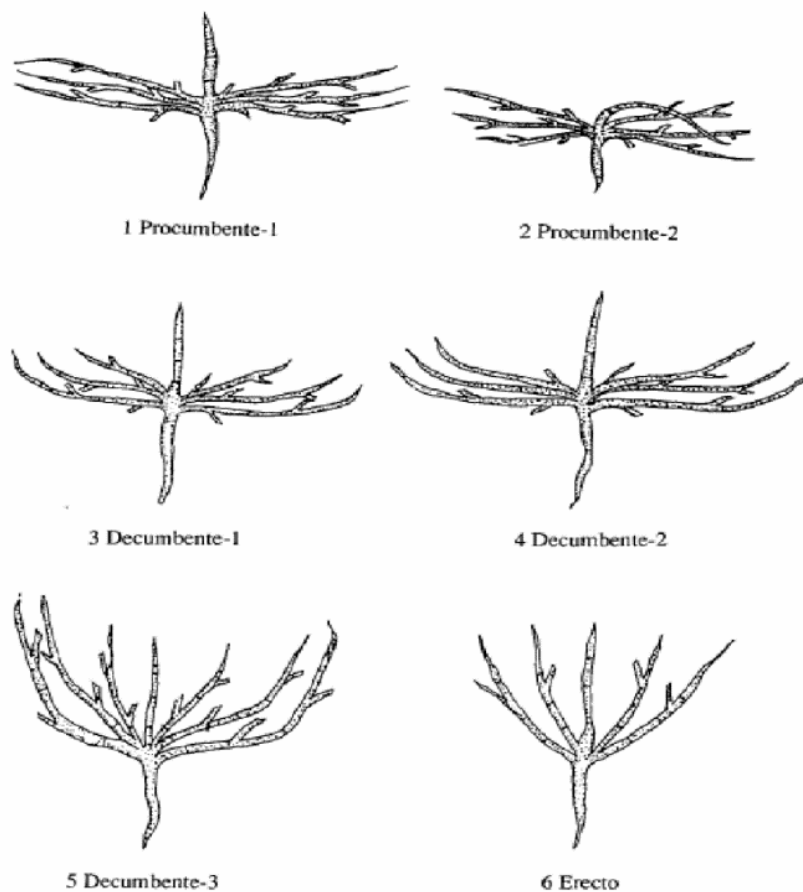
3.1.7.1 Número de días hasta la emergencia

Este descriptor procuró registrar el número de días hasta la emergencia, considerándose alcanzado una vez que el 50% de las plántulas tiene los cotiledones próximos a la superficie del suelo y es visible alguna parte de la plántula. De esta manera se mide el momento en el que se llega al estado de desarrollo vegetativo VE (emergencia).

3.1.7.2 Hábito de crecimiento

El hábito de crecimiento se registra dentro de los estados R3-R7 del cultivo, durante el período de formación de vainas. Se caracteriza según la orientación del crecimiento de las ramificaciones respecto al suelo y el eje principal.

Figura No. 3. Tipos de hábito de crecimiento para las plantas de maní



Fuente: IBPGR. ICRISAT (1992).

3.1.7.3 Flores en tallo principal

Se registra desde floración hasta formación de clavos (R1-R3). Para esta característica simplemente se registra la presencia o ausencia de flores en el tallo principal.

3.1.7.4 Número de ramas primarias

También se visualiza en el curso de los estados R1-R3, registrando la cantidad de ramas que se originan a partir del eje principal de la planta.

3.1.7.5 Número de ramas secundarias

Es registrado desde la floración hasta la formación de clavos (R1-R3) y consiste en contabilizar el número de ramas originadas a partir de las ramas primarias.

3.1.7.6 Superficie del tallo

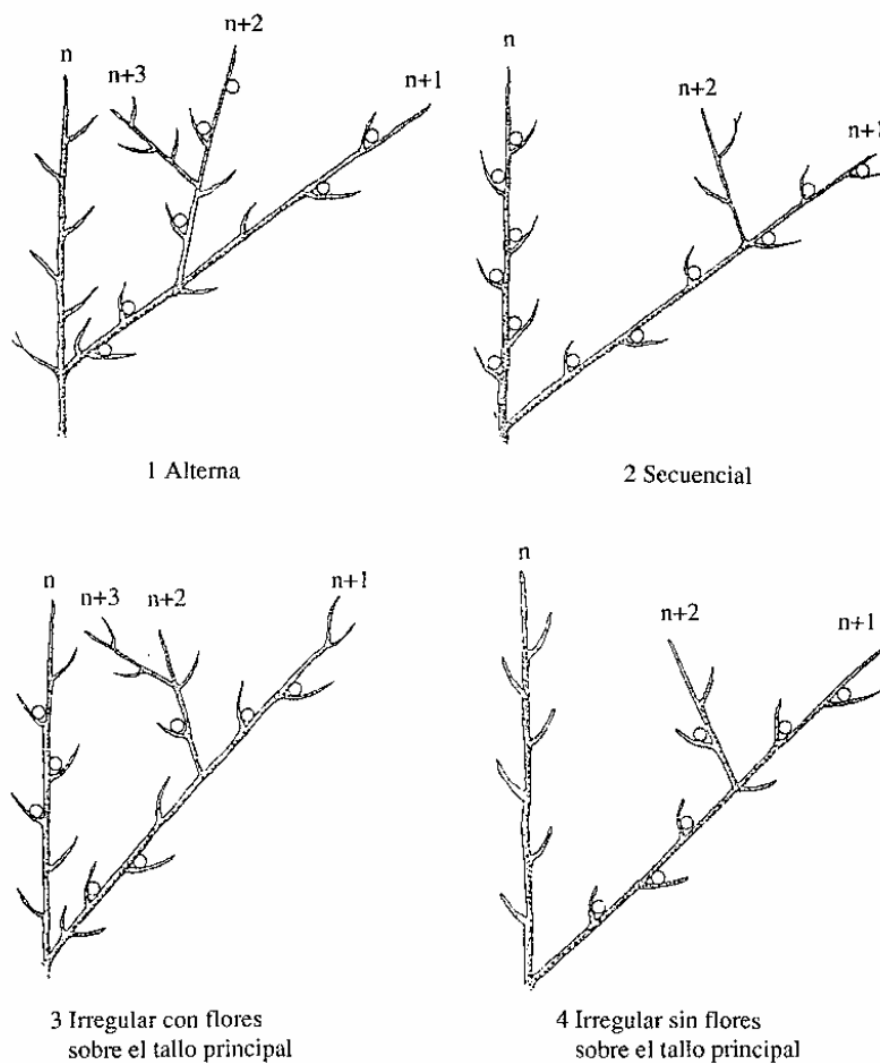
Tiene como objetivo visualizar la pilosidad del tallo principal, pudiéndose observar desde el momento de floración (R3) en adelante. Según el grado de pilosidad se pueden clasificar en distintos niveles: glabro (sin pelos), subglabro (1-2 hileras de pelos), moderadamente peludo (3-4 hileras), peludo (mayormente cubierto de pelos), y lanoso (con pelos largos).

3.1.7.7 Tipo de ramificación

Es un descriptor analizado desde la floración y se caracteriza según la distribución de los nudos en las ramificaciones. Los nudos son vegetativos cuando dan origen a una rama o reproductivos cuando en ellos se forman inflorescencias. La distribución de estos nudos da lugar a distintos tipos de ramificación:

- alterna: hay dos nudos vegetativos a los cuales les siguen dos reproductivos y así sucesivamente.
- secuencial: hay una serie de nudos reproductivos seguidos de nudos vegetativos
- irregular con flores sobre el tallo principal
- irregular sin flores sobre el tallo principal

Figura No. 4. Tipos de ramificación en las plantas de maní



0 = Rama reproductiva

Fuente: IBPGR. ICRISAT (1992).

3.1.7.8 Color del estandarte

Consiste en registrar el color de la cara anterior del pétalo en la última flor fresca completamente desarrollada. Se visualiza en los estados R1 y R2 y se asigna el color según la tabla de Munsell (Munsell Color, 2013).

3.1.7.9 Color de la hoja

Se registra el color de la última hoja completamente abierta del eje principal dentro de los estados R1 y R2. El color es asignado según la tabla de Munsell (Munsell Color, 2013).

3.1.7.10 Altura del tallo principal

Se mide cuando las plantas se encuentran en los estados R1-R2 y se realiza desde la axila cotiledonaria hasta el brote terminal de la planta.

3.1.7.11 Ancho de la planta

El ancho de la planta se mide luego del enclavado (desde R3 a R7) y de ápice a ápice de las ramas primarias opuestas.

3.1.7.12 Pigmentación del tallo

Se registra la presencia o ausencia de pigmentación en el tallo entre el suelo y las primeras ramas primarias de la planta. Se realiza en los estados R2 y R3 de la planta.

3.1.7.13 Ancho del folíolo

Se mide en centímetros, en la parte más ancha del segundo folíolo a la derecha de la planta.

3.1.7.14 Largo del folíolo

Se mide desde la base hasta el ápice del segundo folíolo a la derecha de la planta, en centímetros.

3.1.7.15 Peso total de vainas

Consiste en el registro del peso de la totalidad de las vainas de cada planta, en gramos.

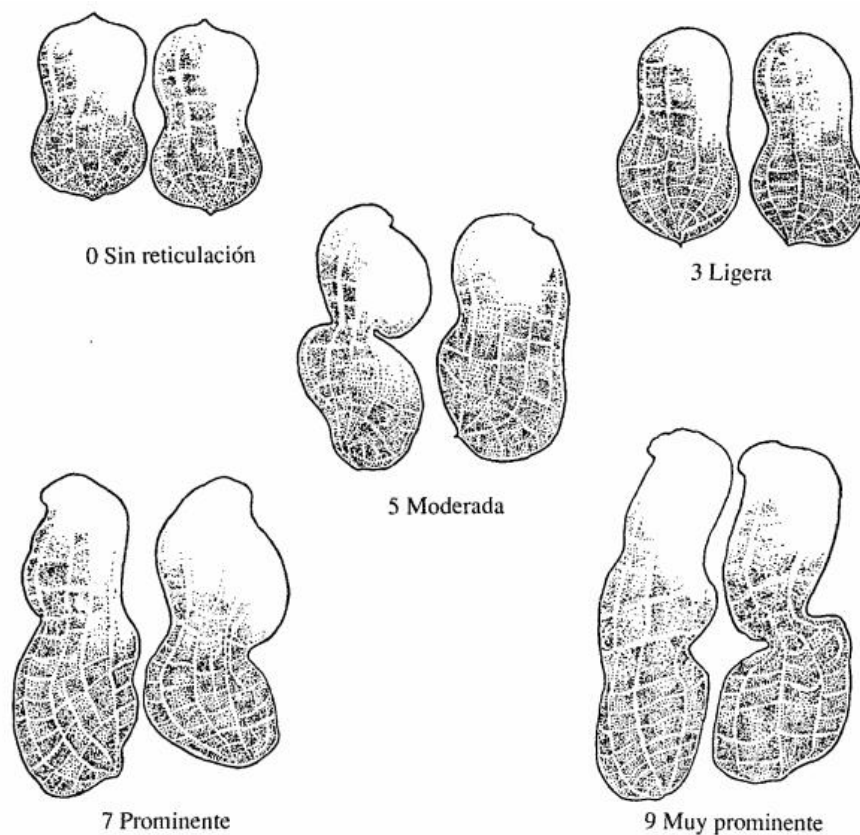
3.1.7.16 Peso promedio de vainas

Corresponde al peso total de las vainas sobre el total de vainas muestreadas (5).

3.1.7.17 Reticulación de la vaina

Según las normas IBGPR. ICRISAT (1992) se puede clasificar la reticulación de la vaina en 5 niveles de acuerdo su prominencia. Se registra con el número correspondiente a la reticulación, para cada una de las 5 vainas seleccionadas por planta.

Figura No. 5. Tipos de reticulación de la vaina



Fuente: IBPGR. ICRISAT (1992).

3.1.7.18 Longitud de la vaina

Esta medida consiste en la medición en milímetros del largo de las 5 vainas seleccionadas por planta.

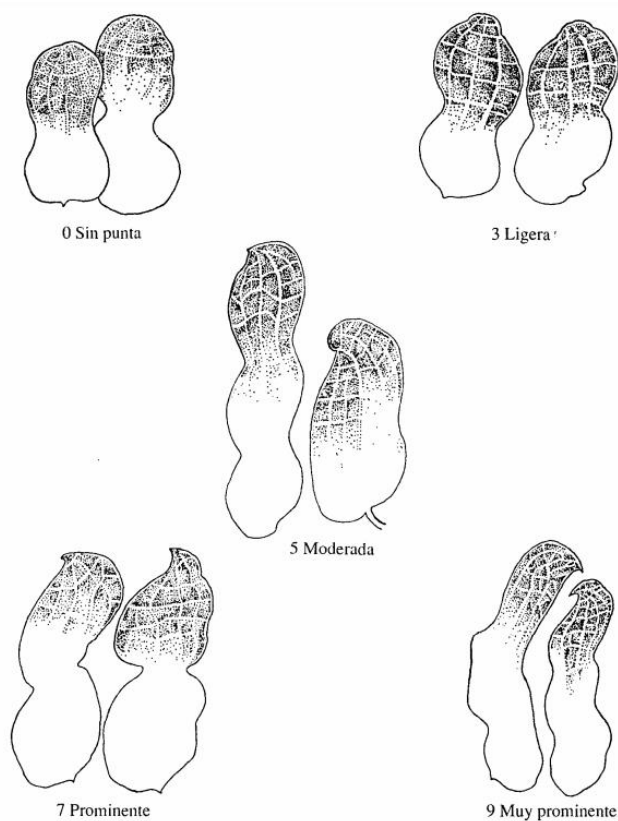
3.1.7.19 Ancho de vaina

El ancho se mide en la parte más ancha de cada una de las 5 vainas seleccionadas por planta. Se registra también en milímetros.

3.1.7.20 Morfología de la punta de vaina

Según la prominencia de la punta de la vaina, se le asigna el número correspondiente de acuerdo a las normas IBPGR. ICRISAT (1992) para el maní.

Figura No. 6. Tipos de punta de la vaina del maní

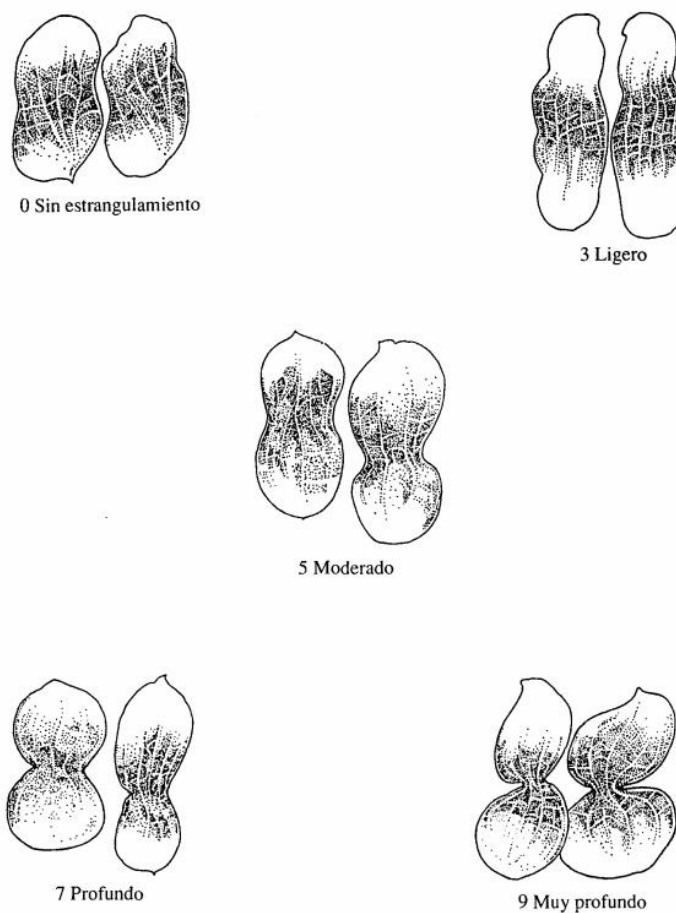


Fuente: IBPGR. ICRISAT (1992).

3.1.7.21 Tipo de estrangulamiento de vaina

Se caracterizan las 5 vainas muestreadas según la profundidad del estrangulamiento que puedan tener, asignando un valor numérico correspondiente de acuerdo a las normas IBPGR. ICRISAT (1992).

Figura No. 7. Tipos de estrangulamiento de la vaina



Fuente: IBPGR. ICRISAT (1992).

3.1.7.22 Número de granos por vaina

Se registra el número de granos que contiene cada vaina de las anteriormente muestreadas, constatando a su vez si existen granos inmaduros o en estado de putrefacción. En caso de haberlos se registra reportando el estado de los mismos.

3.1.7.23 Peso total de 10 granos

Se seleccionan 10 granos al azar derivados de las vainas muestreadas anteriormente (en caso de no alcanzar la cantidad deseada se procede a completar la muestra con granos procedentes de vainas no muestreadas de la misma planta). Se busca que en la medida de lo posible se encuentren sanos y bien desarrollados. Se pesan los 10 granos elegidos al azar, en gramos.

3.1.7.24 Largo de grano

Se mide en milímetros el largo de los 10 granos a muestrear.

3.1.7.25 Ancho de grano

Se registra el ancho del grano, la medida se toma en el punto medio y en milímetros.

3.1.7.26 Color de grano

Corresponde al color de la mayoría de la superficie del grano. Se realiza luego del secado completo de las vainas de manera de identificar debidamente el color de la semilla.

3.2 AISLAMIENTO DE RIZOBIOS A PARTIR DE PLANTAS DE MANÍ

Con el fin de obtener los aislamientos de rizobios presentes en los suelos en interacción con los cultivos de maní presentes en el territorio nacional, se realizó la extracción de muestras de suelo correspondiente a cada localidad conjunto con las semillas de cada variedad criolla. Se logró la colecta de suelo de 7 localidades diferentes de 8

productores con el fin de caracterizar los rizobios presentes en las mismas. Para cumplir este fin se llevaron a cabo ensayos de plantas trampa.

3.2.1 Metodología de siembra en macetas

El suelo de cada sitio fue colocado en macetas tras un proceso de tamización y en cada una de ellas se sembraron las semillas correspondientes a la variedad criolla de la misma localidad. En cada maceta se sembraron 5 semillas de su localidad con el fin de que tengan un adecuado crecimiento y tratar de asegurar la obtención de raíces noduladas. De acuerdo al volumen de suelo obtenido para cada localidad, se adaptó la cantidad de macetas correspondientes. En resumen, de acuerdo a las semillas con la que se trabajó y la cantidad de suelo, la siembra en macetas se distribuyó como se muestra en el Cuadro 5.

Cuadro No. 5. Tabla resumen de la siembra en macetas

| Variedad criolla + suelo original | Departamento | Número de macetas | Número de semillas por maceta |
|--|---------------------|--------------------------|--------------------------------------|
| RNXC02 | Rio Negro | 2 | 5 c/u |
| PAXCO3 | Paysandú | 2 | 5 c/u |
| PAXC04 | Paysandú | 2 | 4 y 5 |
| PAXC05 | Paysandú | 1 | 5 |
| PAXC07 | Paysandú | 2 | 5 c/u |
| ARXC09 | Artigas | 2 | 5 c/u |
| ARXC09* | Artigas | 1 | 5 |
| COXC19 | Colonia | 5 | 5 c/u |

ARXC09* está identificado distinto a ARXC09 ya que se trata de la misma variedad criolla plantada en distinto suelo. COXC19 es la única variedad que ingresó al ensayo de rizobios sin haberse evaluado las características fenotípicas de la misma. Esto se debe a que la colecta se realizó luego de la siembra del ensayo a campo.

El cultivo en macetas fue realizado en el invernáculo de la Granja de la Sede Sayago de UdelaR. Facultad de Agronomía (Montevideo, Uruguay). Se sembró en el día 28 de setiembre de 2020 cultivándose las plantas durante 4 meses, con el debido

tratamiento de riego periódico. No se aplicó herbicida, fungicida, insecticida, ni fertilizante.

3.2.2 Cosecha y aislamiento de nódulos

La cosecha de las plantas de maní se realizó en verano colectando sus sistemas radiculares en bolsas identificadas con el código de la variedad y la maceta correspondiente. Por lo tanto, considerando el número de macetas y de variedades criollas, se colectó el sistema radicular de las plantas en 17 bolsas debidamente identificadas.

Las raíces obtenidas de las macetas fueron inspeccionadas ocularmente en busca de la presencia de nódulos a partir de los cuales se procuraría el aislamiento de los rizobios.

El procedimiento para el aislamiento de los nódulos consistió en la extracción de 5 nódulos por muestra (variedad+maceta). Se realizó una desinfección a los nódulos con utilización de agua destilada mediante agitador, sumersión durante tres minutos en etanol 70% (v/v) , sumersión durante cinco minutos en hipoclorito de sodio al 2,5%, pasando nuevamente a sumergir en alcohol al 70% durante treinta segundos y finalizando el proceso con siete lavados con agua estéril. Luego se los colocó dentro de tubos de ensayo debidamente identificados con la variedad criolla y maceta correspondientes.

3.2.3 Aislamiento de rizobios

Es importante destacar que todos los procesos para el aislamiento de microorganismos se realizaron en condiciones asépticas con tal de lograr una mayor precisión en el objetivo y evitar en mayor medida la contaminación de las muestras. Es por ello que para obtener el jugo nodular, de donde se obtendrían los rizobios, se realizó un macerado aséptico dentro de una cámara de flujo laminar con la adecuada desinfección de los instrumentos utilizados y mediante el aplastado de los nódulos utilizando una varilla estéril.

A partir del jugo nodular obtenido se sembraron en superficies en placas en medio YEM rojo congo (0,65 g/l de K_2HPO_4 , 0,2 g/l de $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0,1 g/l de NaCl, 2,5 g/l de manitol, 7,5 g/l de sacarosa, 0,5 g/l de extracto de levadura, 15 g/l de agar, 1 ml de solución rojo congo). Las placas se incubaron a 28°C hasta obtener colonias. De cada placa se seleccionaron colonias cuyo aspecto coincidía mejor con el esperado para rizobios y se repicaron nuevamente en medio YEM rojo congo y se volvieron a incubar. Los aislamientos realizados se identificaron para cada caso con su código de cada cepa y maceta correspondiente. Todos los repiques se realizaron por siembra por estrías.

Una vez identificadas las colonias más prometedoras de cada cepa según la apariencia de las mismas, y se realizó el aislamiento en medio líquido TSB 1/10 (17 g/l de peptona de caseína, 3 g/l de peptona de soja, 5 g/l de NaCl, 2,5 g/l de fosfato dipotásico, 2,5 g/l de dextrosa) colocándolos en estufa y agitador rotatorio a 28°C para su crecimiento.

Luego, a partir del medio líquido se procedió a la conservación de los aislamientos en microviales bajo una solución de glicerol al 25% (v/v) a -20°C.

El próximo paso sería la identificación molecular de los aislamientos para confirmar su identidad taxonómica.

3.3 CARACTERIZACIÓN GENÓMICA DE RIZOBIOS

3.3.1 Ruptura celular

Se agregó una ansada de la colonia previamente cultivada en Yem rojo congo en un microtubo de 1,5ml el cual en su interior contenía 100 µl de H₂O. El microtubo fue agitado en Vortex y posteriormente centrifugado por dos minutos a 5000g. Se descartó el exceso de agua dentro del microtubo y se agregó 100 µl de NaOH 0,05 M estéril. El preparado se incubó por 4 minutos a 100°C. Al terminar, se procedió a introducir el microtubo en el freezer a -20°C por 4 minutos. Se agregaron 500 µl de H₂O estéril y se trasladaron 100 µl de esa solución a otro microtubo el cual fue usado como solución de trabajo. El resto permaneció almacenado a -20°C. Este proceso se repitió para cada cepa.

3.3.2 Amplificación del gen del ARNr 16S

La mezcla del PCR contenía: 2,5 µl de GoTaq Buffer (Concentración 10X); 1,5 µl de MgCL₂ ; 2,5 µl de dNTPs; 0,5 µl del cebador 27f (AGAGTTTGATCMTGGCTCAG) y 0,5 µl 1522r (CGGTTACCTTGTTACGACTT) ; 0,625 µl de DMSO; 0,25 µl de seroalbúmina bovina (BSA); 0,2 µl de Taq polimerasa y por ultimo 14,425 µl H₂O estéril. Esto sumo un volumen final de 23 µl para cada microtubo.

Posteriormente se introdujo a cada microtubo 2 µl de la solución de trabajo obtenida previamente mencionada en 3.3.1 de cada cepa. Las condiciones de ciclado de PCR constaron de: un paso de desnaturalización inicial de cinco minutos a 95°C; 35 ciclos de: 30 segundos a 95°C, 30 segundos a 58°C y 40 segundos a 72°C; y un paso de extensión final de diez minutos a 72°C.

3.3.3 Electroforesis

Los fragmentos de ADN generados por PCR fueron separados mediante electroforesis en gel de agarosa al 2 % (p/v) y buffer TAE (Tris-acetato 0.04 M (Tris 0.04 M en ácido acético 0.1142 % (v/v)); EDTA 0.001 M, pH 8). Para hacer posible la visualización de los productos de PCR con luz UV, al gel de agarosa se le agrego 2 µl de bromuro de etidio.

Se mezclaron 5 µl de cada producto de PCR con 2 µl de buffer de carga. Posteriormente se cargaron los 7 µl en cada pocillo (un pocillo por cepa). El pocillo central fue cargado con 2 µl de marcador de peso molecular. Se sometió el gel a un campo eléctrico de 6 V/cm durante 2 horas.

Al finalizar la corrida, los productos de PCR fueron observados con transiluminador UV y fotografiados.

3.3.4 Preparación para la secuenciación

Mediante observación ocular se verificó que solo se obtuvo una banda pura (una sola por carril) y que efectivamente solo se amplificó el gen 16S que ronda en las 1500pb como era esperado. Por otro lado, de la misma forma y en comparación con el marcador de peso molecular se determinó una concentración promedio de cada una de las bandas. La concentración de cada una de las bandas fue enviada en conjunto con el número de muestra de ADN correspondiente al laboratorio MacroGen en Corea del Sur para que se le realice un proceso de secuenciación del gen ARNr 16S. Los cebadores son los previamente descriptos en el procedimiento del PCR.

3.3.5 Comparación de secuencias del gen ARNr 16S

Tras recibir los cromatogramas de las secuencias obtenidas para cada muestra, se visualizó la secuencia en el programa CHROMAS 2.6.6 recortando las regiones iniciales y finales de la secuencia (baja resolución de bases asignadas). Las secuencias resultantes de este proceso se contrastaron contra la base de datos de la web Nucleotide Blast del National Center for Biotechnology Information (NCBI).

3.4 MÉTODOS ESTADÍSTICOS

Para poder determinar si pudiesen existir diferencias significativas entre las variedades analizadas se utilizaron los paquetes estadísticos “agricolae”, “datasets”, “ggplot2”, “multcompview”, “dplyr”, “FSA” en el ambiente Rstudio (Allaire, 2011).

Los descriptores fueron subdivididos según el tipo de variable (cuantitativa o cualitativa) y separados por planta, vaina y grano. Por consiguiente, los grupos fueron por planta cuantitativos; por planta cualitativos; por vaina cuantitativos; por vaina cualitativos y por grano cuantitativos. Primero se observaron los histogramas de los datos de cada descriptor para observar si había variación. De existir variabilidad para la característica en cuestión, si se trataba de una variable cuantitativa y presenta una distribución normal se corrió un Test de Anova con su test de comparación de medias (Tukey). Si presentaba una distribución no normal se corría un test de Kruskal Wallis seguido por su correspondiente test de comparación de medias. Cuando la variable en cuestión era del tipo cualitativa se corrió un test Chi2 y para poder comparar las distintas poblaciones se observaban las imágenes de asociación.

Por otro lado, se utilizó Microsoft Excel para obtener los parámetros estadísticos de cada variable para cada población (media, mediana, mínimo, moda y desvío estándar).

4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 CARACTERIZACIÓN DE LAS VARIEDADES DE MANÍ

Existieron diferencias significativas en dieciocho de los veintiséis descriptores evaluados dentro las variedades criollas. De acuerdo a este resultado se puede establecer que por lo tanto existen diferencias genéticas entre las diferentes variedades criollas analizadas. La diversidad observada es interesante del punto de vista de los recursos genéticos que presenta el Uruguay para el cultivo de maní. Según Brush (2000), la conservación in situ de los recursos genéticos es de vital importancia para la evolución y mejoramiento de las especies. De acuerdo a lo observado, en los cultivos de maní de Uruguay se está manteniendo la diversidad genética.

De los veintiséis descriptores evaluados, hubo ocho que no presentaron variación significativa entre todas las poblaciones. Estos fueron el hábito de crecimiento, color del estandarte, color de hoja, pigmentación del tallo, largo de foliolo, presencia de flores en el tallo principal, tipo de ramificación y número de granos por vaina. Todas las poblaciones presentaron hábito erecto, un estandarte de color 7.5 YR 7/10 (tabla Munsell), hoja de color 5 GY 4/6 (tabla Munsell), ausencia de pigmentación en el tallo, un largo de foliolo con media de 4,35 cm, presencia de flores en el tallo principal y tres granos por vaina.

La inexistencia de diferencias significativas en los descriptores de: tipo de ramificación, hábito de crecimiento y presencia de flores en el tallo principal nos afirman que todas las poblaciones criollas evaluadas se ubican dentro de la misma subespecie. Todas las poblaciones presentaron ramificación irregular con flores en el tallo principal y hábito erecto, lo cual significa que se trata de variedades de *Arachis hypogaea* subsp. *fastigiata*. Lo cual coincide con lo estudiado por Rocha y Valls (2017), que consideran a Uruguay como centro de diversidad de *Arachis hypogaea* subsp. *fastigiata*. La coincidencia en estas características debido a que se trata de la misma subespecie del maní, puede ser explicada por la selección de los productores en el pasado, buscando obtener un fruto con gran rendimiento aceitero (para venta en Aceitera Mandubí). Esta es la subespecie que otorgaba esta característica.

4.1.1 Parámetros poblacionales

Para el conjunto de las seis poblaciones se observó la media, mínimo, máximo, moda y desvío de cada variable continua (ver Anexo 2).

Estos parámetros permitieron tener una visión general de los resultados obtenidos para cada descriptor asociado a cada una de las variedades criollas, siendo la

media el parámetro más relevante para la comparación entre poblaciones seguido por el desvío.

Cuadro No. 6. Valores de media y desvío estándar en descriptores según variedad criolla

| | | VARIEDAD | | | | | | |
|-------------------|-----------------|-----------|----------|-----------|----------|----------|----------|----------|
| | | RNXC02 | PAXC03 | PAXC04 | PAXC05 | PAXC07 | ARXC09 | |
| DESCRIPTOR | H | \bar{x} | 9,00 b | 13,65 a | 8,25 b | 9,40 b | 11,10 ab | 10,40 b |
| | | σ | 1,98 | 2,05 | 1,65 | 2,08 | 2,21 | 1,46 |
| | Aplanta | \bar{x} | 14,03 b | 19,10 a | 13,00 b | 14,63 b | 17,13 ab | 15,57 ab |
| | | σ | 3,05 | 2,59 | 3,16 | 3,71 | 3,83 | 2,29 |
| | Afoliolo | \bar{x} | 2,30 ab | 2,46 a | 2,40 ab | 2,47 a | 2,34 ab | 2,10 b |
| | | σ | 0,16 | 0,27 | 0,28 | 0,30 | 0,21 | 0,15 |
| | Lfoliolo | \bar{x} | 4,31 a | 4,56 a | 4,68 a | 4,46 a | 3,99 a | 4,22 a |
| | | σ | 0,59 | 0,56 | 0,66 | 0,56 | 0,25 | 0,38 |
| | P10G | \bar{x} | 4,13 bc | 4,48 b | 3,02 d | 5,24 a | 3,70 cd | 4,32 b |
| | | σ | 0,75 | 0,91 | 1,23 | 0,61 | 1,53 | 0,68 |
| | PV | \bar{x} | 11,29 bc | 14,07 abc | 13,40 c | 19,67 a | 10,15 c | 9,00 ab |
| | | σ | 4,93 | 5,08 | 15,55 | 9,42 | 4,35 | 5,27 |
| | PVE | \bar{x} | 7,77 ab | 8,17 ab | 5,95 b | 10,19 a | 6,66 b | 7,06 ab |
| | | σ | 1,48 | 2,39 | 2,55 | 2,39 | 3,09 | 1,55 |
| | PPV | \bar{x} | 1,58 ab | 1,64 ab | 1,48 ab | 2,04 a | 1,48 ab | 1,47 b |
| | | σ | 1,58 | 0,48 | 0,36 | 0,48 | 0,51 | 0,25 |
| | LV | \bar{x} | 36,64 ab | 36,49 ab | 33,04 b | 40,24 a | 32,76 b | 35,16 ab |
| | | σ | 7,99 | 8,99 | 7,94 | 7,95 | 7,38 | 7,53 |
| | AV | \bar{x} | 12,77 b | 13,32 ab | 12,83 ab | 13,72 a | 13,23 ab | 13,05 ab |
| | | σ | 1,34 | 1,39 | 1,08 | 1,33 | 1,73 | 1,16 |
| LG | \bar{x} | 14,33 a | 13,77 ab | 12,80 b | 14,22 a | 13,53 ab | 12,90 b | |
| | σ | 1,30 | 2,08 | 1,95 | 1,24 | 1,58 | 1,63 | |
| AG | \bar{x} | 7,46 b | 7,92 a | 8,13 a | 7,91 a | 7,75 ab | 7,65 ab | |
| | σ | 0,45 | 0,69 | 0,63 | 0,71 | 0,94 | 0,72 | |

4.1.2 Descriptores cuantitativos

Tras la realización del test de medias para cada uno de los descriptores se pudo verificar que las variedades criollas son significativamente diferentes a las demás amparados en estos resultados (ver Anexo 3).

PAXC03 tuvo una media de altura, ancho de planta y ancho de foliolo superior al resto de las variedades criollas, lo que la convirtió en la población con plantas más grandes.

No obstante, la variedad que se destacó del resto en los descriptores de grano y vaina fue PAXC05, ubicándose en el grupo significativamente superior para los descriptores PPV, P10G, PV, LV, AV, AG y LG. Esto va de la mano con que también fue la población con el mayor número de ramas primarias.

4.1.3 Descriptores cualitativos

A partir del análisis estadístico de las variables categóricas, se obtuvo la moda y las distintas categorías observadas por descriptor para cada población. El número de categorías observadas es un indicador de gran relevancia de acuerdo a la variabilidad de los descriptores, ya que aporta información sobre cuantas variantes pueden haber dentro de un mismo descriptor según las distintas poblaciones. Es un complemento a la información que brinda la moda, que si bien demuestra el estado más repetido para una variable en una población, no puede representar la variabilidad de la misma (Cuadro 7).

Cuadro No. 7. Moda y número de categorías observadas para los descriptores según variedad criolla

| | | | VARIEDAD | | | | | |
|------------|-------|-----------------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| | | | RNXC 02 | PAXC 03 | PAXC 04 | PAXC 05 | PAXC 07 | ARXC 09 |
| Descriptor | Sup | Moda | 2 | 2 | 1 | 2 | 2 | 2 |
| | | Categorías observadas | 1 | 2 | 2 | 3 | 1 | 3 |
| | Pflor | Moda | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 |
| | | Categorías observadas | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| | Tram | Moda | 4 | 4 | 4 | 3 | 3 | 4 |
| | | Categorías observadas | 2 | 2 | 2 | 2 | 3 | 2 |
| | NR1 | Moda | 4 | 4 | 5 | 6 | 5 | 5 |
| | | Categorías observadas | 3 | 6 | 3 | 4 | 4 | 7 |
| | NR2 | Moda | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | Categorías observadas | 3 | 2 | 3 | 3 | 3 | 6 |
| | CG | Moda | Rosado | Rojo | Rojo | Rojo | Rojo | Rojo |
| | | Categorías observadas | 2 | 1 | 1 | 1 | 3 | 3 |
| | Punt | Moda | 3 | 5 | 3 | 5 | 5 | 5 |
| | | Categorías observadas | 4 | 2 | 4 | 1 | 1 | 1 |
| Est | Moda | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | |

| | | | | | | | | |
|--|------------|------------------------------|---|---|---|---|---|---|
| | | Categorías observadas | 5 | 4 | 4 | 4 | 4 | 3 |
| | Ret | Moda | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| | | Categorías observadas | 3 | 2 | 3 | 4 | 1 | 2 |
| | NGV | Moda | 3 | 3 | 3 | 3 | 2 | 3 |
| | | Categorías observadas | 4 | 5 | 4 | 4 | 4 | 4 |

Mediante el test de asociación de las variables se pudo visualizar la tendencia de cada población a una determinada categoría para cada uno de los descriptores en cuestión. En el Anexo 4 se pueden observar los gráficos resultantes, cuanto más azul y más grande sea el círculo más asociada esta esa categoría a la población en cuestión. De forma contraria cuanto más rojo y más chico sea el círculo menos asociada a esa población.

PAXC04 fue la única de todas las poblaciones que tuvo una fuerte asociación a tener en su mayoría plantas con tallo glabro mientras que la única población que presento tallos moderadamente peludos fue PAXC03.

El color del grano de maní vario dentro de las categorías rojo, moro y rosado. PAXC07 fue la única variedad en la que se identificó una asociación por el test Chi2 con el color moro, presentándolo como moda, mientras que RNXC02 lo fue en el color rosado. Además la población PAXC07 fue la que presento mayor intra-variación ya que hubieron semillas de todos los colores. El resto de las poblaciones tuvieron como moda el color rojo. Estos resultados coinciden a los presentados en la tesis de Alza et al. (1989), que arrojó al color colorado (equivalente a rojo) como moda en las líneas relevadas. Si bien existe variabilidad en el color de grano, el color rojo es el predominante para las variedades criollas del Uruguay.

Por otro lado, PAXC07 y RNXC02 fueron las poblaciones que presentaron niveles de estrangulación más altos destacándose RNXC02. El resto de las poblaciones tendieron a tener un bajo nivel de estrangulamiento. Alza et al. (1989), relacionan valores altos de reticulado y estrangulamiento a vainas pequeñas. Los resultados obtenidos arrojaron cierta asociación entre estas características.

La gran mayoría de las variedades criollas tuvo una punta moderada excepto la variedad PAXC04 la cual tuvo una punta ligera y la variedad RNXC02 que presentó una asociación fuerte con punta prominente. El descriptor reticulación tuvo una gran variabilidad entre las poblaciones. Se destacó la variedad PAXC05 por tener una reticulación muy prominente y nuevamente RNXC02 por básicamente no tener reticulación. La gran variabilidad en cuanto a la reticulación de las vainas puede ser explicada por el hecho de que esta característica no tiene asociación con ningún factor productivo, por lo cual nunca se ejerció presión de selección sobre el mismo.

Se encontraron diferencias en el número de ramas primarias variando entre poblaciones y dentro de ellas, a diferencia de los resultados presentados por Alza et al. (1989), en el cual no hallaron variación para el mismo descriptor contabilizando cinco ramas primarias en todas las plantas.

Con respecto al número de granos por vaina, los resultados demuestran que se tratan de variedades de fruto chico en su mayoría (de dos a tres granos por vaina). Esto difiere a lo obtenido por Alza et al. (1989), que obtuvieron frutos grandes principalmente, conformados por cuatro a cinco granos. Esta diferencia puede ocurrir debido a que las variedades de fruto chico estudiadas por Alza en 1989 mostraron una clara superioridad a las variedades de fruto grande en porcentaje de aceite, número de frutos por planta, porcentaje de grano e Índice de cosecha en todas las localidades que se llevó a cabo el ensayo.

4.2 CARACTERIZACIÓN DE LAS POBLACIONES DE RIZOBIOS

Todas las plantas presentaron nódulos de un tamaño aproximado de 5mm, con un color amarillento y forma esférica. Mediante el procesamiento de los nódulos de las plantas de maní cultivadas en los suelos correspondientes, se obtuvieron veintiún aislamientos de colonias que serían potenciales rizobios. Los resultados muestran que solamente en una de las variedades criollas los aislamientos que se obtuvieron arrojaron resultados de secuencias del gen ARNr 16S estrechamente relacionado a los rizobios. La misma corresponde a una variedad de maní cultivada en Guayuvirá, Artigas (identificada durante el ensayo como ARXC09*). Mediante la comparación de la secuencia de bases de ARN editada en el programa CHROMAS 2.6.6 y comparada en la web de Nucleotide Blast, la secuencia del gen ARNr 16S para la cepa ARXC09* estuvo estrechamente emparentada con *Rhizobium alamii* para dos de las muestras y *Rhizobium rhizoryzae* para la otra (ver Cuadro 8).

Cuadro No. 8. Resultados de comparación de secuencias del gen ARNr 16S

| No. de muestra | Cepa | Especie más cercana | Porcentaje de identidad | Familia | Número de bases comparadas |
|----------------|--------|----------------------------|-------------------------|-------------------|----------------------------|
| 2 | ARXC09 | <i>Leifsonia soli</i> | 99.51% | Microbacteriaceae | 817 |
| 3 | ARXC09 | <i>Bacillus zanthoxyli</i> | 99.89% | Bacillaceae | 873 |
| 4 | ARXC09 | <i>Prieta megaterium</i> | 100.00% | Bacillaceae | 874 |

| | | | | | |
|----|---------|-------------------------------------|---------|-------------------|-----|
| 5 | PAXC03 | <i>Priesta flexa</i> | 100.00% | Bacillaceae | 285 |
| 6 | PAXC04 | <i>Bacillus zanthoxyli</i> | 100.00% | Bacillaceae | 862 |
| 7 | PAXC05 | <i>Bacillus tequilensis</i> | 99.85% | Bacillaceae | 662 |
| 8 | PAXC07 | <i>Leifsonia lichenia</i> | 99.21% | Microbacteriaceae | 379 |
| 10 | RNXC02 | <i>Gottfriedia acidiceleris</i> | 99.26% | Bacillaceae | 809 |
| 11 | PAXC07 | <i>Bacillus zanthoxyli</i> | 100.00% | Bacillaceae | 907 |
| 12 | PAXC03 | <i>Gottfriedia acidiceleris</i> | 99.34% | Bacillaceae | 906 |
| 13 | ARXC09* | <i>Rhizobium alamii</i> | 99.77% | Rhizobiaceae | 855 |
| 15 | PAXC07 | <i>Leifsonia shinshuensis</i> | 97.96% | Microbacteriaceae | 735 |
| 16 | ARXC09* | <i>Paenibacillus glycanilyticus</i> | 99.88% | Paenibacillaceae | 827 |
| 17 | ARXC09* | <i>Rhizobium alamii</i> | 99.38% | Rhizobiaceae | 806 |
| 18 | COXC19 | <i>Bacillus zanthoxyli</i> | 99.88% | Bacillaceae | 830 |
| 20 | ARXC09* | <i>Rhizobium rhizoryzae</i> | 99.88% | Rhizobiaceae | 812 |
| 21 | PAXC04 | <i>Bacillus zanthoxyli</i> | 99.87% | Bacillaceae | 782 |

De acuerdo a los antecedentes de rizobios asociados al maní, los resultados obtenidos no coinciden con ninguna de las especies de rizobios relevados en estudios anteriores, por lo que se puede considerar que es la primera instancia en la que se

identifican estas especies de rizobios asociadas al cultivo del maní y se confirma que la planta del maní es un hospedero para especies emparentadas con *Rhizobium alamii* y *Rhizobium rhyzoryzae*, desarrollando una asociación simbiótica.

Por otro lado, los resultados que demostraron secuencias emparentadas a los géneros *Bacillus*, *Leifsonia*, *Gottfriedia* y *Priesta*, son una consecuencia de la contaminación de las muestras a través de la rizósfera.

De todos modos, también se observó una secuencia estrechamente relacionada a la de la especie *Paenibacillus glycanilyticus*, un resultado interesante, ya que recientes hallazgos detectaron que la presencia de esta bacteria en el nódulo presenta algunas ventajas para la planta en *Arachis villosa*. Su presencia ayuda a la planta a combatir algunos hongos u oomycetes que puedan infectarla, sin afectar la asociación simbiótica con los rizobios (Costa et al., 2022).

5. CONCLUSIONES

En primer lugar, se demostró que existen diferencias significativas en la mayoría de los descriptores entre las variedades criollas de maní evaluadas confirmando así la variación de tipo genética. Lo cual va en consonancia con los resultados obtenidos por Alza et al. (1989).

Las diferencias no solo fueron entre poblaciones sino también intrapoblacionales. Esto concuerda con las características de una variedad criolla. El maní es una planta autógena, por ende al autofecundarse tiende a la homocigosis. Pero al ser una variedad criolla, da lugar a las diferencias entre plantas de una misma población generando así una población heterogénea.

Se observó diversidad, considerando que se hallaron diferencias significativas para dieciocho de los veintiséis descriptores estudiados. Al presentar heterogeneidad, el material obtenido puede ser utilizado como base para el mejoramiento genético del cultivo en el Uruguay. Brush (2000) destaca la importancia de las prácticas de producción familiar con respecto a la viabilidad de la agricultura como sistema, un factor clave en la evolución genética de los cultivos.

En cuanto a los descriptores relacionados a la productividad del maní, hubo una variedad (PAXC05) que se destacó ante las demás. La misma presentó una moda de seis ramas primarias mientras que las de otras poblaciones fue cuatro y cinco ramas. Un mayor número de ramas primarias genera mayor cantidad de ramas secundarias. Esto puede explicar en parte el mayor rendimiento productivo, ya que desde estas ramas se elongan clavos que desarrollaran vainas. Alza et al. (1989), relacionaron un mayor número de ramas secundarias a un mayor forraje, y a su vez mayor cantidad de clavos fértiles que darán lugar a los frutos. Este resultado coloca a esta población como un material interesante para realizar mejoras genéticas si lo que se busca es obtener un mayor: número de vainas, peso de vaina o peso de grano.

Por otro lado, la variedad RNXC02 fue la que presentó mayores diferencias fenotípicas respecto a las otras poblaciones. Esto puede ser explicado debido a la ubicación geográfica de los distintos cultivos. Cuatro de las variedades se ubican en el mismo departamento (Paysandú), una en Artigas y la variedad en cuestión en Rio Negro. Es más probable que suceda el intercambio de semillas entre productores de un mismo departamento que entre departamentos.

A diferencia de las producciones comerciales de maní presentes en el mercado nacional que todas las semillas son de un solo color, las variedades criollas evaluadas presentaron variabilidad en el color de grano. Esto le otorga un valor agregado ya que

aumenta la oferta para el consumidor que prefiera otro color distinto, además que lo diferencia del maní exportado y es asociado a un producto más orgánico.

Galván et al. (2005), destacan el valor de las poblaciones locales para el mejoramiento genético, por lo cual es importante conocer las aptitudes del germoplasma que tiene disponible el país y mantener las distintas variedades criollas. El presente trabajo permitió ampliar y actualizar la información sobre las variedades criollas de maní presentes en el territorio uruguayo.

Con respecto al resultado obtenido para la caracterización de los rizobios asociados a los cultivos, se logró aislar solamente dos cepas en tres aislamientos con sus secuencias de ARNr 16S estrechamente relacionadas a *Rhizobium alamii* y *Rhizobium rhyzoryzae*, correspondientes a un mismo cultivo (variedad criolla y suelo correspondiente). Es la primera instancia en la que se identifican estas dos cepas de rizobios relacionadas al cultivo de maní.

El bajo éxito en el número de aislamientos que arrojaron secuencias de bases estrechamente relacionadas a especies de rizobios puede ser explicado por muchas razones. Entre ellas, hay que considerar que la planta de maní se encuentra asociada generalmente a bacterias del género *Bradyrhizobium* (de crecimiento lento), lo que puede hacer más dificultoso su aislamiento, ya que otras bacterias que le compiten tienen un crecimiento más rápido.

Por otro lado, en el nódulo hay otros microorganismos que coexisten con los rizobios, algunos con propiedades muy interesantes que podrían ser explotados biotecnológicamente. En parte, alguno de estos microorganismos puede haber complicado el aislamiento de rizobios.

Además, se entiende que pudo haber errores que condujeron a un aislamiento poco eficiente ya que se obtuvo rizobios en solo tres de los veintinueve aislamientos realizados. Existe cierta dificultad en el aislamiento de rizobios ya que atraviesa un proceso de desinfección complicado. Debe existir un balance entre eliminar todo tipo de microorganismo que habite la superficie de los nódulos, pero a su vez mantener los rizobios que hay en el nódulo. Esto puede explicar la presencia de algunos microorganismos que contaminaron la muestra. Además, considerando la coyuntura de emergencia sanitaria existente durante el transcurso de la investigación, se restringió la posibilidad de permanecer por tiempos prolongados realizando el experimento en el laboratorio de la Facultad. A su vez, este marco no permitió la repetición de algunas etapas del procedimiento que hubiesen requerido volver a realizarse para obtener mejores resultados.

La investigación realizada aporta información interesante a la hora de conocer los rizobios asociados a los cultivos de maní presentes en el Uruguay. Si se pretende

avanzar hacia producciones comerciales del mismo, sería interesante evaluar cual es la combinación de variedad de maní con su especie de rizobio que logra los mayores rendimientos. Es decir, una investigación que evalúe ambas variables combinadas sería importante para avances en la producción nacional.

Considerando el contexto, con los países vecinos bien posicionados en el mercado internacional siendo Argentina el máximo exportador y Brasil colocándose en séptimo lugar a nivel mundial, resultaría interesante estudiar la alternativa de asociarse a Argentina o Brasil en el orden de acceder a las exportaciones en caso de alcanzar volúmenes exportables en el Uruguay. En el primer semestre de 2021, Argentina concentró su exportación sobre la Unión Europea, Reino Unido, Rusia y China, países con una elevada demanda del producto (MDP. CEP, 2021). Además, la variedad de productos comercializables que surgen a raíz del cultivo de maní hace pensar que puede tratarse de una gran oportunidad.

6. RESUMEN

El principal objetivo del presente trabajo fue estudiar la diversidad genética de variedades criollas de maní ubicadas a lo largo del territorio nacional y la presencia de rizobios asociados a estos cultivos. La caracterización de las distintas variedades criollas se realizó a partir de un ensayo a campo evaluando caracteres morfológicos durante el cultivo y postcosecha. El ensayo se instaló Granja de la Sede Sayago de UdelaR. Facultad de Agronomía (Montevideo, Uruguay), entre el 30 de noviembre de 2020 y 5 de mayo de 2021. Para la caracterización de rizobios se instalaron macetas en el invernáculo ubicado en Granja de la Sede Sayago de UdelaR. Facultad de Agronomía (Montevideo, Uruguay), sembrándose el día 28 de setiembre de 2020 cultivándose las plantas durante cuatro meses, con el debido tratamiento de riego periódico hasta su posterior cosecha con el fin de obtener raíces noduladas. A partir de estos nódulos se aislaron colonias de microorganismos buscando los rizobios asociados a estas plantas de maní. Fueron evaluadas 6 variedades criollas, las cuales presentaron diferencias significativas en dieciocho de los veintiséis descriptores morfológicos evaluados, observándose una variación intra e interpoblacional. Mediante la comparación de secuencias de bases obtenidas de aislamientos extraídos a partir de los nódulos se consiguió emparentar la secuencia del gen ARNr 16S a dos especies de rizobios (*Rhizobium alamii* y *Rhizobium rhyzoryzae*).

Palabras clave: *Arachis hypogaea*; Biodiversidad; Leguminosas; Recursos genéticos; Simbiosis.

7. SUMMARY

The main objective of this experiment was to study the genetic diversity of peanut landraces located throughout the national territory and the presence of rhizobia associated with these varieties. The characterization of the different peanut landraces was carried out in a field, evaluating morphological characters during cultivation and post-harvest. The experiment was installed planting in rows (a row per variety) in a parcel located at the Granja de la Sede Sayago de UdelaR. Facultad de Agronomía (Montevideo, Uruguay), during the period from November 30th. 2020 to May 5th. 2021. For the characterization of rhizobia, pots were installed in the greenhouse located at the Granja de la Sede Sayago de UdelaR. Facultad de Agronomía (Montevideo, Uruguay), being sown on September 28th. 2020, and cultivated for four months, with periodic irrigation treatment until their subsequent harvest in order to obtain nodulated roots. From these nodules, colonies of microorganisms were isolated looking for rhizobia associated with these peanut plants. Six landraces of peanut cultivated in Uruguay were evaluated, which showed significant differences in 18 of the 26 morphological descriptors evaluated, showing intra- and interpopulation variation. Through the comparison of base sequences obtained from isolates extracted from nodules, the 16S rRNA gene sequence was related to two rhizobial species (*Rhizobium alarii* and *Rhizobium rhyzoryzae*).

Keywords: *Arachis hypogaea*; Biodiversity; Legumes ; Genetic resources; Symbiosis.

8. BIBLIOGRAFÍA

1. Allaire, J. 2012. RStudio: integrated development environment for R. (en línea). The R User Conference, useR! (7th., 2011, Coventry, UK). Book of contributed abstracts. s.n.t. p.14. Consultado abr. 2021. Disponible en <https://www.r-project.org/conferences/useR-2011/abstracts/180111-allairejj.pdf>
2. Alza, J.; Dutto, P.; Ferreira, R. 1989. Caracterización y evaluación primaria de germoplasma nacional de maní. Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uruguay. Universidad de la República. Facultad de Agronomía. 106 p.
3. Angelini, J.; Taurian, T.; Ibañez, F.; Tonelli, M.; Bianucci, E.; Anzuay, M.; Valetti, L.; Furlán, A.; Muñoz, V.; Ludueña, L.; Carlier, E.; Castro, S.; Fabra, A. 2017. Bacterias asociadas a la planta de maní. In: Fernández, E.; Giayetto, O. eds. El cultivo de maní en Córdoba. 2^a. ed. ampl. Córdoba, UNRC. pp. 135-159.
4. Aparicio-Tejo, P.; Apresse-Igor, C.; Becana, M. 2013. Fijación biológica de nitrógeno. In: Azcón-Bieto, J.; Talón, M. coords. Fundamentos de fisiología vegetal. 2^a. ed. Madrid, McGraw Hill Interamericana. pp. 305-322.
5. Bonetto, L.; Pietrarelli, J. 1986. Maní: historia, importancia técnica del cultivo, uso y comercialización. Córdoba, INTA. 52 p. (Cuaderno Actualización Técnica no. 3).
6. Brush, S. 2000. Genes in the field: on-farm conservation of crop diversity. Boca Raton, FL, IPGRI. IPRC. 288 p.
7. Buchanan, B.; Gruissem, W.; Jones, R. 2015. Biochemistry and Molecular Biology of Plants. 2nd. ed. West Sussex, UK, Wiley. 1264 p.
8. Camacho Villa, C.; Maxted, N.; Scholten, M.; Ford-Lloyd, B. 2005. Defining an identifying crop landraces. Plant Genetic Resources: characterization and Utilization. 3(3):373-384.
9. Castaño, J.; Giménez, A.; Ceroni, M.; Furest, J.; Aunchayna, R.; Bidegain, M. 2011. Caracterización agroclimática del Uruguay 1980-2009. Montevideo, INIA. 34 p. (Serie Técnica no. 193).

10. Chen, W.; Moulin, L.; Bontemps, C.; Vandamme, P.; Béna, G.; Boivin-Masson, C.; Legume symbiotic nitrogen fixation by beta-proteobacteria is widespread in nature. *Journal of Bacteriology*. 185(24):7266-7272.
11. CIAT (Centro Internacional de Agricultura Tropical, CO). 1987. Simbiosis leguminosa-rizobio: evaluación, selección y manejo. Cali. 73 p.
12. Condón, F.; Rossi, C. 2018. Banco de germoplasma INIA: conservando la diversidad de nuestras plantas. *Revista INIA*. no. 52:52-55.
13. Costa, A.; Corallo, B.; Amarelle, V.; Stewart, S.; Pan, D.; Tiscornia, S.; Fabiano, E. 2022. *Paenibacillus* sp. strain UY79, isolated from a root nodule of *Arachis villosa*, displays a broad spectrum of antifungal activity. *Applied and Environmental Microbiology*. 88(2):30-36.
14. Croci, C. 2020. Dinámica de la expresión de los genes nod de rizobios pertenecientes al género *Cupriavidus*. Tesis Lic. Bioq. Montevideo, Uruguay. Universidad de la República. Facultad de Ciencias. 76 p.
15. De Almeida Silva, N.; Malaquias Costa, F.; Vidal, R.; Veasey, E. 2020. Maíces de las tierras bajas de América del Sur y conservación de la agrobiodiversidad en Brasil y Uruguay. Ponta Grossa, Atena. 263 p.
16. Di Barbaro, G.; Andrada, H.; Viale, S.; Gómez Bello, C.; Cajal, J.; Ulla, E. 2011. Capacidad de nodulación de maní (*Arachis hypogaea* L.) con poblaciones autóctonas de rizobios. *Biología en Agronomía*. 1(2):7-15.
17. FAO (Food and Agriculture Organization, IT). 2014. Normas para bancos de germoplasma de recursos fitogenéticos para la alimentación y la agricultura. Roma. 167 p.
18. Frioni, L.; González, H.; Vilaró, F. 2005. Estado actual de la investigación en poblaciones locales de hortalizas en Uruguay y su utilización en el mejoramiento. *Agrociencia (Uruguay)*. 9(1-2):115-122.

19. _____. 2006. Microbiología: básica, ambiental y agrícola. Montevideo, Uruguay, Universidad de la República. Facultad de Agronomía. 463 p.
20. Galván, G.; Porta, B.; Rivas, M.; Peluffo, S.; González, H.; García de Souza, M.; Bellenda, B. 2015. Valoración de las semillas criollas y recursos genéticos nativos del Uruguay. (en línea). Montevideo, UdelaR. Facultad de Agronomía. 8 p. Consultado abr. 2021. Disponible en http://dedicaciontotal.udelar.edu.uy/adjuntos/produccion/1324_academicas_academicaarchivo.pdf
21. Garabato, F. 2018. Descripción de nuevos rizobios asociados a leguminosas nativas. Tesina Lic. Bioq. Montevideo, Uruguay. Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable. Departamento de Bioquímica y Genómica Microbianas. 65 p.
22. Giambastiani, G. 2000. El cultivo de maní: recopilación bibliográfica. (en línea). Córdoba, UNC. Facultad de Ciencias Agrarias. 19 p. Consultado abr. 2021. Disponible en <http://agro.unc.edu.ar/~ceryol/documentos/mani/mani.pdf>
23. Giayetto, O.; Fernández, E.; Cerioni, G.; Morla, F. 2017. Desarrollo. In: Fernández, E.; Giayetto, O. eds. El cultivo de maní en Córdoba. 2ª. ed. ampl. Córdoba, UNRC. pp. 59-65.
24. Gibson, K.; Kobayashi, H.; Walker, G. 2008. Molecular Determinants of a Symbiotic Chronic Infection. Annual Review of Genetics. 42(1):413-441.
25. Gutiérrez Sena, P. 2017. Evaluación de rizobios para el desarrollo de un inoculante eficiente y competitivo de *Trifolium repens*. Tesis Mag. Ciencias Agrarias opc. Ciencias Vegetales. Montevideo, Uruguay. Universidad de la República. Facultad de Agronomía. 100 p.
26. Haubman, P. 2021. Uruguay tiene condiciones para producir maní para el mercado interno y la exportación. (en línea). La Mañana, Montevideo, UY, jun. 2:s.p. Consultado feb. 2022. Disponible en <https://www.xn--lamaana-7za uy/agro/uruguay-tiene-condiciones-para-producir-mani-para-el-mercado-interno-y-la-exportacion/>
27. IBPGR. ICRISAT (International Board for Plant Genetic Resources. International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics, IN). 1992. Descriptors for groundnut. Patancheru, India. 124 p.

28. Izquierdo, J.; Nusslein, K. 2006. Distribution of extensive nifH gene diversity across physical soil microenvironments. *Microbial Ecology*. 51(4):441-452.
29. La Voz de Melo. 2020. Para los productores de maní de la 5ª. sección esta ha sido una mala zafra y no registran ganancias. (en línea). La Voz de Melo, Melo, UY, may. 28:s.p. Consultado abr. 2021. Disponible en <http://www.lavozdemelo.com/2020/05/28/para-los-productores-de-mani-de-la-5a-seccion-esta-ha-sido-una-mala-zafra-y-no-registran-ganancias/para-los-productores-de-mani-de-la-5a-seccion-esta-ha-sido-una-mala-zafra-y-no-registran-ganancias/>
30. MacLean, A.; Finan, T.; Sadowsky, M. 2007. Genomes of the symbiotic nitrogen-fixing bacteria of legumes. *Review. Plant Physiology*. 144 (2):615-622.
31. MDP. CEP (Ministerio de Desarrollo Productivo. Centro de Estudios para la Producción, AR). 2021. Informe de complejos exportadores: evolución y análisis de la dinámica de los principales 40 complejos exportadores durante el primer semestre de 2021. 85 p.
32. MGAP. DGRN (Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca. Dirección General de Recursos Naturales, UY). 2020. Carta de suelos. (en línea). Montevideo. Esc. 1:40000. Consultado set. 2021. Disponible en <http://dgrn.mgap.gub.uy/js/visores/cartasuelos/>
33. _____. DIEA (Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca. Dirección de Estadísticas Agropecuarias, UY). 2020. Complejo indiferenciado Melilla El Colorado e2. Unidad de mapeo: estudios básicos del suelo. Montevideo. 2 p.
34. Millot, J.; Cairús, E. 1985. Germoplasma Nacional de Maní: informe preliminar. Montevideo, Facultad de Agronomía/IBPGR. 20 p.
35. Montevideo Portal, UY. 2017. Uruguay colocó primera exportación de maní a Chile. (en línea). Montevideo. s.p. Consultado abr. 2021. Disponible en <https://www.montevideo.com.uy/Noticias/Uruguay-coloco-primer-exportacion-de-mani-a-Chile-uc666018>
36. Moulin, L.; Munive, A.; Dreyfus, B.; Boivin-Masson, C. 2001. Nodulation of legumes by members of the beta-subclass of Proteobacteria. *Nature*. 411:948-950.

37. Munsell Color, US. 2013. Munsell soil-color charts: with genuine Munsell color chips. Grand Rapids, Michigan. s.p.
38. Pereira, G. 1995. Cultivo de maní. Montevideo, INIA. 23 p. (Serie Técnica no. 48).
39. _____. 2006. Cultivo de maní. In: Bemhaja, M.; Pittaluga, O. eds. 30 años de investigación en suelos de areniscas. Montevideo, INIA. pp. 275-281 (Serie Técnica no. 159).
40. Quintero J.; Frank, N.; Oreggioni, W.; Cánepa, G. 2012. La producción y comercialización de alimentos para el consumo local en la 5^a. sección del Departamento de Cerro Largo. Montevideo, UdelaR. SCEAM. 46 p.
41. Rocha, R.; Valls, J. 2017. O gênero *Arachis* L. (Fabaceae) no Rio Grande do Sul. *Revista Brasileira de Biociências*. 15(3):99-118.
42. USDA. IPAD (United States Department of Agriculture. International Production Assesment Division, US). 2021. Peanut Explorer. (en línea). Washington, D. C. s.p. Consultado abr. 2021. Disponible en https://ipad.fas.usda.gov/cropexplorer/cropview/commodityView.aspx?cropid=2221000&sel_year=2020&rankby=Production
43. Valls, J.; Simpson, C. 2005. New species of *Arachis* L. (Leguminosae) from Brazil, Paraguay and Bolivia. *Bonplandia*. 14(1-2):35- 63.
44. _____.; Da Costa, L.; Custodio, A. 2013. A novel trifoliolate species of *Arachis* (Fabaceae) and further comments on the taxonomic section *Trirectoides*. *Bonplandia*. 22(1):91-97.
45. Weir, B. 2016. The current taxonomy of rhizobia. (en línea) Auckland, NZ Rhizobia. s.p. Consultado set. 2021. Disponible en <https://www.rhizobia.co.nz/taxonomy/rhizobia>

9. ANEXOS

Anexo No. 1. Cuadro resumen de acrónimos correspondientes a cada descriptor evaluado

| Descriptor | Acrónimo |
|---|-----------------|
| Número de días hasta la emergencia | NdE |
| Hábito de crecimiento | HC |
| Flores en tallo principal | Pflor |
| Número de ramas primarias | NR1 |
| Número de ramas secundarias | NR2 |
| Superficie del tallo | Sup |
| Tipo de ramificación | Tram |
| Color del estandarte | CE |
| Color de la hoja | CH |
| Altura del tallo principal | H |
| Ancho de la planta | Aplanta |
| Pigmentación del tallo | PT |
| Ancho del foliolo | Afoliolo |
| Largo del foliolo | Lfoliolo |
| Peso total de vainas | PV |
| Peso promedio de vainas | PPV |
| Reticulación de la vaina | Ret |
| Longitud de la vaina | LV |
| Ancho de vaina | AV |
| Morfología de la punta de vaina | Pun |
| Tipo de estrangulamiento de vaina | Est |
| Número de granos por vaina | NGV |
| Peso total de 10 granos | P10G |
| Largo de grano | LG |
| Ancho de grano | AV |
| Color del grano | CG |

Anexo No. 2. Cuadro de análisis estadístico de las variables continuas

| n | | VARIEDAD | | | | | | GENERAL | | |
|------------|----------|-----------|--------|--------|--------|--------|--------|----------|-----------|-------|
| 50 | | RNXC02 | PAXC03 | PAXC04 | PAXC05 | PAXC07 | ARXC09 | | | |
| DESCRIPTOR | H | \bar{x} | 9,00 | 13,65 | 8,25 | 9,40 | 11,10 | 10,40 | \bar{x} | 10,45 |
| | | Moda | 14,00 | 14,00 | 8,50 | 9,00 | 13,00 | 11,00 | Moda | 9,00 |
| | | Mín. | 6,50 | 10,00 | 5,50 | 6,50 | 7,50 | 8,00 | Mín. | 5,50 |
| | Máx. | 12,00 | 17,00 | 10,50 | 14,00 | 14,00 | 13,00 | Máx. | 17,00 | |
| | Med. | 8,25 | 13,50 | 8,50 | 9,00 | 11,00 | 10,25 | Med. | 10,00 | |
| | σ | 1,98 | 2,05 | 1,65 | 2,08 | 2,21 | 1,46 | σ | 2,60 | |
| | Aplanta | \bar{x} | 14,03 | 19,10 | 13,00 | 14,63 | 17,13 | 15,57 | \bar{x} | 15,76 |
| | | Moda | | | | 17,50 | 20,00 | 14,50 | Moda | 17,00 |
| | | Mín. | 9,50 | 14,50 | 7,50 | 8,00 | 8,50 | 12,50 | Mín. | 7,50 |
| | Afoliolo | Máx. | 20,00 | 22,00 | 17,00 | 19,00 | 21,00 | 20,00 | Máx. | 22,00 |
| | | Med. | 13,88 | 20,38 | 13,00 | 16,13 | 18,75 | 14,75 | Med. | 16,00 |
| | | σ | 3,05 | 2,59 | 3,16 | 3,71 | 3,83 | 2,29 | σ | 3,71 |
| | Lfoliolo | \bar{x} | 2,30 | 2,46 | 2,40 | 2,47 | 2,34 | 2,10 | \bar{x} | 2,34 |
| | | Moda | | | | 2,40 | 2,30 | 2,10 | Moda | 2,30 |
| | | Mín. | 2,00 | 2,00 | 1,90 | 2,00 | 2,10 | 1,90 | Mín. | 1,90 |
| | PI0G | Máx. | 2,50 | 3,00 | 2,70 | 3,00 | 2,80 | 2,40 | Máx. | 3,00 |
| | | Med. | 2,30 | 2,45 | 2,40 | 2,45 | 2,30 | 2,10 | Med. | 2,30 |
| | | σ | 0,16 | 0,27 | 0,28 | 0,30 | 0,21 | 0,15 | σ | 0,26 |
| | PV | \bar{x} | 4,31 | 4,56 | 4,68 | 4,46 | 3,99 | 4,22 | \bar{x} | 4,35 |
| | | Moda | | | | 5,20 | 4,10 | | Moda | 4,00 |
| | | Mín. | 3,50 | 3,60 | 3,80 | 3,60 | 3,50 | 3,70 | Mín. | 3,50 |
| | PVE | Máx. | 5,40 | 5,30 | 5,80 | 5,20 | 4,30 | 5,00 | Máx. | 5,80 |
| | | Med. | 4,25 | 4,55 | 4,50 | 4,55 | 4,10 | 4,10 | Med. | 4,25 |
| | | σ | 0,59 | 0,56 | 0,66 | 0,56 | 0,25 | 0,38 | σ | 0,55 |
| | PPV | \bar{x} | 4,13 | 4,48 | 3,02 | 5,24 | 3,69 | 4,32 | \bar{x} | 4,25 |
| | | Moda | 4,50 | | | 4,60 | | 5,00 | Moda | 5,00 |
| | | Mín. | 2,60 | 2,60 | 1,60 | 4,60 | 0,70 | 3,30 | Mín. | 0,70 |
| | LV | Máx. | 5,00 | 5,90 | 4,80 | 6,30 | 5,80 | 5,10 | Máx. | 6,30 |
| | | Med. | 4,45 | 4,40 | 3,10 | 5,05 | 3,95 | 4,40 | Med. | 4,45 |
| | | σ | 0,75 | 0,91 | 1,23 | 0,61 | 1,53 | 0,68 | σ | 1,17 |
| | AV | \bar{x} | 11,29 | 14,07 | 13,40 | 19,67 | 10,15 | 15,00 | \bar{x} | 13,97 |
| | | Moda | | | | | | | Moda | 15,20 |
| | | Mín. | 5,60 | 5,20 | 2,70 | 4,20 | 3,60 | 4,30 | Mín. | 2,70 |
| | AG | Máx. | 20,00 | 22,30 | 46,80 | 35,50 | 15,20 | 23,70 | Máx. | 46,80 |
| | | Med. | 9,90 | 14,55 | 6,70 | 15,85 | 12,30 | 15,65 | Med. | 13,70 |
| | | σ | 4,93 | 5,08 | 15,55 | 9,42 | 4,35 | 5,27 | σ | 8,25 |
| | LG | \bar{x} | 7,77 | 8,17 | 5,95 | 10,19 | 6,66 | 7,06 | \bar{x} | 7,75 |
| | | Moda | | | | | | 4,30 | Moda | 4,30 |
| | | Mín. | 5,60 | 4,50 | 2,70 | 4,20 | 2,20 | 4,30 | Mín. | 2,20 |
| | PPV | Máx. | 10,00 | 12,13 | 10,80 | 13,00 | 12,20 | 9,00 | Máx. | 13,00 |
| | | Med. | 8,10 | 8,25 | 5,65 | 10,20 | 6,15 | 7,45 | Med. | 8,00 |
| | | σ | 1,48 | 2,39 | 2,55 | 2,39 | 3,09 | 1,55 | σ | 2,64 |
| | LV | \bar{x} | 1,58 | 1,64 | 1,48 | 2,04 | 1,48 | 1,47 | \bar{x} | 1,62 |
| | | Moda | 1,62 | | | | | | Moda | 1,40 |
| | | Mín. | 1,12 | 0,90 | 1,04 | 0,84 | 0,90 | 0,86 | Mín. | 0,84 |
| | AV | Máx. | 2,00 | 2,43 | 2,16 | 2,60 | 2,44 | 1,80 | Máx. | 2,60 |
| | | Med. | 1,62 | 1,65 | 1,39 | 2,04 | 1,27 | 1,49 | Med. | 1,61 |
| | | σ | 1,58 | 0,48 | 0,36 | 0,48 | 0,51 | 0,25 | σ | 0,45 |
| | AG | \bar{x} | 36,64 | 36,49 | 33,04 | 40,24 | 32,76 | 35,16 | \bar{x} | 36,05 |
| | | Moda | | 40,54 | | | | | Moda | 40,54 |
| | | Mín. | 18,40 | 20,04 | 16,67 | 20,28 | 21,14 | 19,39 | Mín. | 16,67 |
| | AG | Máx. | 61,27 | 56,91 | 47,94 | 56,76 | 52,63 | 49,58 | Máx. | 61,27 |
| | | Med. | 38,05 | 35,20 | 34,35 | 39,45 | 30,20 | 37,20 | Med. | 8,35 |
| | | σ | 7,99 | 8,99 | 7,94 | 7,95 | 7,38 | 7,53 | σ | 36,05 |
| | AG | \bar{x} | 12,77 | 13,32 | 12,83 | 13,72 | 13,23 | 13,05 | \bar{x} | 13,19 |
| | | Moda | 13,07 | | | | | | Moda | 13,07 |
| | | Mín. | 9,16 | 10,62 | 11,14 | 10,57 | 10,84 | 10,76 | Mín. | 9,16 |
| | AG | Máx. | 17,35 | 16,80 | 15,28 | 17,47 | 17,17 | 18,56 | Máx. | 18,56 |
| | | Med. | 12,61 | 13,33 | 12,60 | 13,40 | 12,45 | 12,80 | Med. | 13,01 |
| | | σ | 1,34 | 1,39 | 1,08 | 1,33 | 1,73 | 1,16 | σ | 1,41 |
| | AG | \bar{x} | 14,33 | 13,77 | 12,80 | 14,22 | 13,53 | 12,89 | \bar{x} | 13,67 |
| | | Moda | | | | | 12,62 | | Moda | 13,37 |
| | | Mín. | 12,13 | 7,95 | 10,45 | 11,81 | 8,73 | 9,52 | Mín. | 7,95 |
| | AG | Máx. | 17,68 | 18,75 | 18,08 | 16,94 | 16,47 | 16,74 | Máx. | 18,75 |
| | | Med. | 14,22 | 14,15 | 12,34 | 14,37 | 13,67 | 12,57 | Med. | 13,62 |
| | | σ | 1,30 | 2,08 | 1,95 | 1,24 | 1,58 | 1,63 | σ | 1,72 |
| | AG | \bar{x} | 7,46 | 7,92 | 8,13 | 7,91 | 7,75 | 7,65 | \bar{x} | 7,78 |
| | | Moda | 7,38 | | | 7,97 | | 7,69 | Moda | 8,47 |
| | | Mín. | 6,11 | 6,56 | 6,76 | 6,44 | 5,69 | 5,21 | Mín. | 5,21 |
| | AG | Máx. | 8,34 | 10,00 | 9,04 | 9,95 | 10,05 | 9,22 | Máx. | 10,05 |
| | | Med. | 7,42 | 7,93 | 8,22 | 7,98 | 7,67 | 7,69 | Med. | 7,73 |
| | | σ | 0,45 | 0,69 | 0,63 | 0,71 | 0,94 | 0,72 | σ | 0,73 |

Anexo No. 3. Cuadro resumen de variables continuas con resultado de test de medias

| | | VARIEDAD | | | | | | Comentarios | |
|--|-----------|-----------|----------|-----------|----------|----------|----------|-------------|--|
| | | RNXC02 | PAXC03 | PAXC04 | PAXC05 | PAXC07 | ARXC09 | | |
| D E S C R I P T O R | H | \bar{x} | 9,00 b | 13,65 a | 8,25 b | 9,40 b | 11,10 ab | 10,40 b | |
| | | σ | 1,98 | 2,05 | 1,65 | 2,08 | 2,21 | 1,46 | |
| | Aplanta | \bar{x} | 14,03 b | 19,10 a | 13,00 b | 14,63 b | 17,13 ab | 15,57 ab | |
| | | σ | 3,05 | 2,59 | 3,16 | 3,71 | 3,83 | 2,29 | |
| | Afoliolo | \bar{x} | 2,30 ab | 2,46 a | 2,40 ab | 2,47 a | 2,34 ab | 2,10 b | |
| | | σ | 0,16 | 0,27 | 0,28 | 0,30 | 0,21 | 0,15 | |
| | Lfoliolo | \bar{x} | 4,31 a | 4,56 a | 4,68 a | 4,46 a | 3,99 a | 4,22 a | No presenta diferencias significativas |
| | | σ | 0,59 | 0,56 | 0,66 | 0,56 | 0,25 | 0,38 | |
| | P10G | \bar{x} | 4,13 bc | 4,48 b | 3,02 d | 5,24 a | 3,70 cd | 4,32 b | |
| | | σ | 0,75 | 0,91 | 1,23 | 0,61 | 1,53 | 0,68 | |
| | PV | \bar{x} | 11,29 bc | 14,07 abc | 13,40 c | 19,67 a | 10,15 c | 9,00 ab | Comparada mediante valor H |
| | | σ | 4,93 | 5,08 | 15,55 | 9,42 | 4,35 | 5,27 | |
| | PVE | \bar{x} | 7,77 ab | 8,17 ab | 5,95 b | 10,19 a | 6,66 b | 7,06 ab | |
| | | σ | 1,48 | 2,39 | 2,55 | 2,39 | 3,09 | 1,55 | |
| | PPV | \bar{x} | 1,58 ab | 1,64 ab | 1,48 ab | 2,04 a | 1,48 ab | 1,47 b | |
| | | σ | 1,58 | 0,48 | 0,36 | 0,48 | 0,51 | 0,25 | |
| | LV | \bar{x} | 36,64 ab | 36,49 ab | 33,04 b | 40,24 a | 32,76 b | 35,16 ab | |
| | | σ | 7,99 | 8,99 | 7,94 | 7,95 | 7,38 | 7,53 | |
| | AV | \bar{x} | 12,77 b | 13,32 ab | 12,83 ab | 13,72 a | 13,23 ab | 13,05 ab | |
| | | σ | 1,34 | 1,39 | 1,08 | 1,33 | 1,73 | 1,16 | |
| LG | \bar{x} | 14,33 a | 13,77 ab | 12,80 b | 14,22 a | 13,53 ab | 12,90 b | | |
| | σ | 1,30 | 2,08 | 1,95 | 1,24 | 1,58 | 1,63 | | |
| AG | \bar{x} | 7,46 b | 7,92 a | 8,13 a | 7,91 a | 7,75 ab | 7,65 ab | | |
| | σ | 0,45 | 0,69 | 0,63 | 0,71 | 0,94 | 0,72 | | |

Anexo No. 4. Tests de asociación de variables cualitativas

Figura No. 1. Color de grano

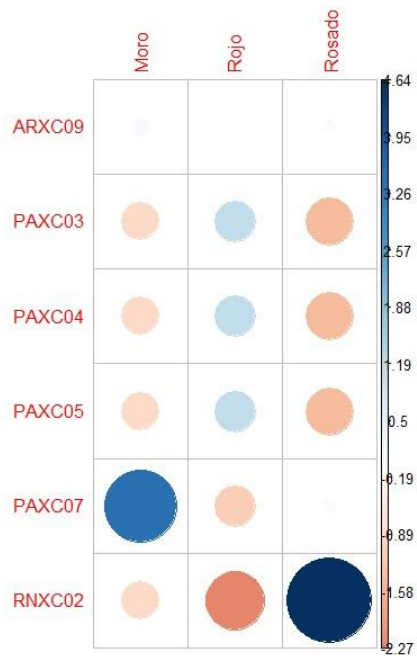


Figura No. 2. Pilosidad del tallo

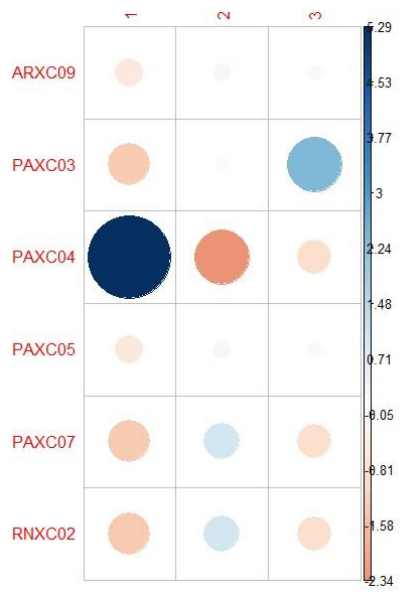


Figura No. 3. Estrangulamiento de vaina

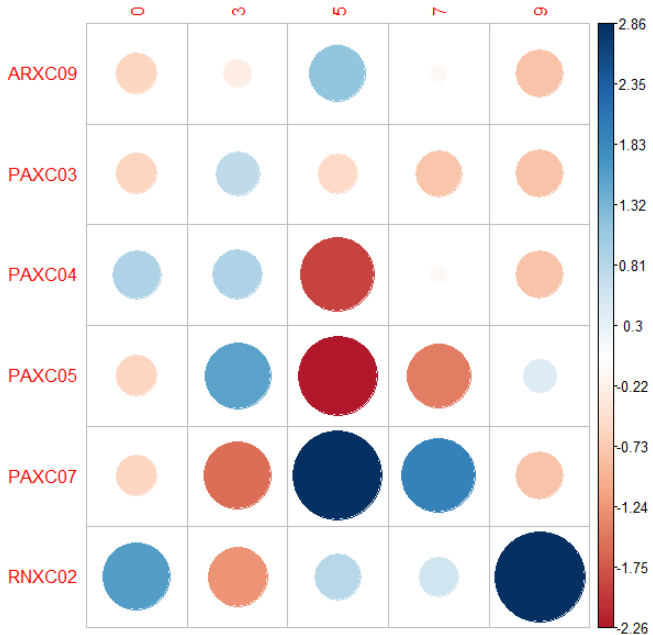


Figura No. 4. Punta de vaina

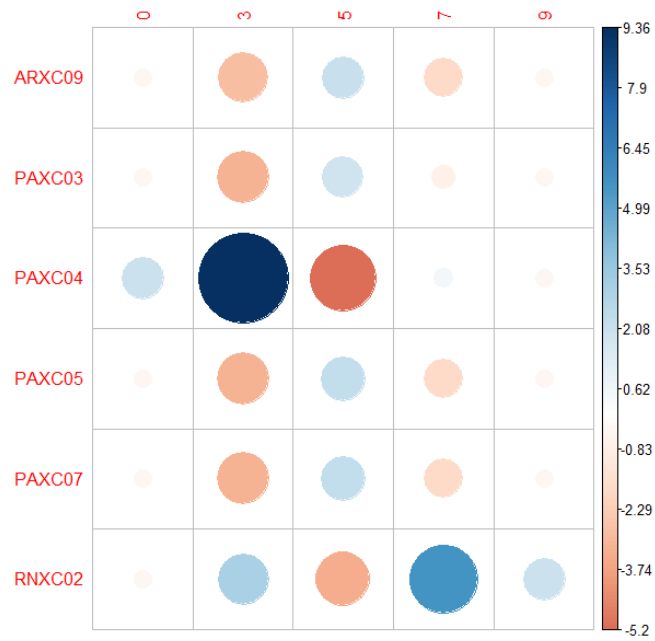


Figura No. 5. Reticulación de vaina

