

Evaluación morfológica y fenológica de 10 clones de yerba dulce (*Stevia rebaudiana*) según el tiempo térmico

GUERRERO, D. R.¹; BÄR, A. ²; KRYVENKI, M.¹ y DOMÍNGUEZ, M.¹.

RESUMEN

El cultivo de la yerba dulce se está consolidando como una alternativa productiva para la provincia de Misiones. Este trabajo tiene como objetivo comparar variables morfológicas y tiempo térmico de las diferentes etapas y fases fenológicas en 10 clones de yerba dulce (tratamientos). Las observaciones se registraron desde septiembre de 2010 a abril de 2011. El cálculo del tiempo térmico se realizó con el método residual tomándose como temperatura base 10 °C. Las variables morfológicas mostraron diferencias significativas entre algunos de los tratamientos para el número de hojas expandidas, número de tallos secundarios, número de entrenudos y altura de planta en cm; sin embargo no se registraron diferencias para el número de tallos primarios en ninguno de los clones. El clon T9-STK12 requirió el mayor tiempo térmico para completar la etapa vegetativa (1993 grados día). Para iniciar la etapa reproductiva (inicio de botón floral) los clones necesitaron acumular entre 1596 (T9-STK12) y 857 (T1-STE21) grados día desde el inicio de la brotación, habiendo además superposición de estas etapas en todos los clones. La etapa reproductiva se dividió en tres fases (botón floral, flor abierta y fructificación). Para finalizar esta última se requirieron entre 1664 (T1-STE21) y 925 (T9-STK12) grados día. El presente trabajo permitió cuantificar variables morfológicas de los clones desconocidas anteriormente y evaluar su comportamiento fenológico. Estos resultados podrían ser utilizados para establecer diferentes técnicas apropiadas de manejo del cultivo (cosecha de hojas y semillas) y para la selección de nuevos materiales genéticos a partir de cruzamientos controlados.

Palabras claves: grados-día, fase, etapa, método residual.

ABSTRACT

Sweet herb crop is consolidating as a productive alternative for Misiones province. The aim of this work was to compare ten clones of Stevia (treatments) with respect to morphological variables and thermal time accumulation in the different phenological stages and phases. Observation period was September 2010 to April 2011. Residual method was used to calculate degree-days, taking 10 °C as base temperature. Morphological variables showed significant differences between treatments for number of expanded leaves, number of secondary stems, number of internodes and plant height in cm, and not for number of primary stems. Clone T9-STK12 required the greatest thermal time accumulation to complete vegetative stage (1993 degree days). To initiate reproductive stage (flower bud) clones needed to accumulate between 1596 (T9-STK12) and 857 (T1-STE21) degree-days. Overlapping stages were observed in all treatments. Reproductive stage was divided into three

¹Área Biotecnología Vegetal, EEA INTA Cerro Azul. guerrero.diego@inta.gob.ar

²Ing. Agr. Independiente.

stages (flower bud, open flower and fruit) and required to be complete between 1664 (T1-STE21) and 925 (T9-STK12) degree-days. This work allowed us to quantify morphological variables previous unknown for these clones and to evaluate their phenological behaviour. These results could be useful to establish appropriate crop management (leaves or seeds harvesting) and selection of new genetic material from controlled crossing.

Keywords: degree-days, phase, stage, residual method.

INTRODUCCIÓN

En los últimos años, en la provincia de Misiones se ha generado la necesidad de diversificar la producción agrícola basada fundamentalmente en los cultivos de yerba mate, té y tabaco. Una de las alternativas que ha surgido es la producción de yerba dulce.

La yerba dulce es una planta perenne y herbácea, posee una raíz poco profunda que se distribuye cerca de la superficie del suelo (Bondarev *et al.*, 2003) y su tallo es subleñoso, con tendencia a inclinarse. Durante su desarrollo inicial no posee ramificaciones tornándose multicaule después del primer ciclo vegetativo. En condiciones óptimas, el tallo puede llegar hasta un metro y medio de altura (Sagakuchi y Tatasuiko, 1982; Guedes *et al.*, 2014). Las hojas son elípticas, ovales o lanceoladas, simples, de bordes dentados, algo pubescentes, distribuidas en verticilos alternos; de color verde oscuro brillante y superficie rugosa, de hasta 5 cm de largo por 2 cm de ancho. Esta es la parte vegetal mayormente utilizada como endulzante (Sojearto *et al.*, 1983, Melis *et al.*, 2009), siendo unas 30 veces más dulces que el azúcar de caña (Rojas Montoya 2009). De estas se extraen, a partir de diversas técnicas, los distintos componentes que contienen propiedades edulcorantes (Lv *et al.*, 2014), siendo los más importantes el esteviósido y el rebaudiósido A (Midmore y Rank, 2002), que en su forma pura son 200 a 300 veces más dulces que la sacarosa (Cardello *et al.*, 1999; Prakash *et al.*, 2008; Lorenzo *et al.*, 2014). Sin embargo se siguen registrando nuevos glicósidos de diterpeno, los cuales también pueden adquirir importancia (Ibrahim *et al.*, 2014). La flor es hermafrodita tubular, chica y blanquecina, sin fragancia perceptible, encontrándose en capítulos pequeños terminales o axilares, agrupados en panículas corimbosas (Rojas Montoya, 2009, Shock, 1982). La planta es autoincompatible; para desarrollar embriones fértiles es necesaria la polinización cruzada principalmente realizada por insectos. El fruto es un aquenio que se disemina fácilmente por el viento, estos se clasifican en: claro estéril, oscuro fértil y oscuro estéril (Carneiro 1990). La multiplicación de esta planta puede realizarse en forma sexual partiendo de semillas o asexual a partir de estacas (Casaccia y Álvarez, 2006), división de matas o porciones de hojas y ápices (Nower, 2014). Para esto se utiliza macropropagación (Kryvenki *et al.*, 2007) o cultivo de tejidos a través de la micropropagación (Jain *et al.*, 2012; Vázquez-Baxcajay *et al.*, 2014). Esta última técnica es muy estudiada por muchos investigadores porque

permite una alta tasa de multiplicación en períodos cortos de tiempo (Singh y Dwivedi, 2013; Razak *et al.*, 2014; Fakhrul *et al.*, 2014).

El crecimiento y desarrollo de la yerba dulce está influenciado en forma directa por los factores climáticos (Molero, 1984), por este motivo el conocimiento fenológico es relevante ya que permite generar información sobre las variaciones que ocurren en las plantas (Bello, 1988). Analizando la importancia del conocimiento de los eventos fenológicos, sumada a la falta de información de estos en yerba dulce, se advierte el valor de su estudio. A partir de lo mencionado se plantea el siguiente objetivo de trabajo: comparar variables morfológicas y el tiempo térmico de las diferentes etapas y fases fenológicas en 10 clones de yerba dulce. Las variables morfológicas seleccionadas presentan una relevante importancia a nivel productivo (obtención de hojas secas y plantines a partir de semillas) y el conocimiento de las diferentes etapas y fases fenológicas permitirá realizar apropiados manejos en futuros huertos semilleros policlonales como: selección de diferentes clones con fenologías similares para ser implantados, cruzamientos dirigidos utilizando clones que, en condiciones de campo, no se polinizarían y manejo de la recolección, almacenamiento y siembra de semillas para la obtención de plantines de calidad.

MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se realizó en un lote ubicado en las instalaciones de la EEA INTA Cerro Azul, Misiones, en el período comprendido entre el mes de septiembre de 2010 y abril de 2011. El suelo de la parcela presentó las siguientes características químicas y físicas: nitrógeno total 0,40%, fósforo extractable (P_2O_5) 30 ppm, potasio intercambiable 0,94 meq/100 g, materia orgánica 5%, CIC total 30 meq/100 g, pH agua (1:2,25) 6,11, arena 50%, limo 20%, arcilla 50% y densidad aparente 1,2 Kg/m³ (esta última se registró utilizando metodología para suelos pedregosos). Como material vegetal se utilizaron 10 clones de yerba dulce seleccionados por sus características agronómicas de un huerto semillero policlonal implantado en el año 2006. La selección se realizó a partir de la variabilidad que presentaron los clones durante 4 años con respecto a morfología y duración del ciclo vegetativo y reproductivo. Cada material genético contaba con 18 plantas, dando una totalidad de 180 plantas en el ensayo. Los plantines fueron obtenidos a través de propagación agámica (estacas) en condiciones

de invernáculo. Estos plantines, que tenían una altura promedio de 15 cm y un mínimo de 5 raíces, fueron plantados en el mes de marzo de 2010 en una parcela de 9,2 metros de longitud por 6 metros de ancho, en secano. El marco de plantación elegido fue de 0,4 m entre plantas y 0,5 m entre surcos: este espaciamiento facilitó los trabajos culturales y el registro de datos (Carneiro 1990).

Para la plantación se utilizó la siguiente metodología: el suelo fue rastreado y se marcaron los surcos con azada, la plantación se realizó en forma manual efectuándose posteriormente un riego a la parcela. Cada clon con sus respectivos 18 plantines se plantaron en 3 parcelas conteniendo 6 plantas cada una. Cada grupo (6 plantas) se distribuyó al azar en el terreno. Las borduras se implantaron de igual manera que las parcelas, utilizando únicamente el clon denominado T1-STE21.

Se fertilizaron con 15-15-15 (nitrógeno, fósforo y potasio) al inicio del ciclo (septiembre) a razón 20 gramos por planta, colocando el fertilizante a 10 cm de la planta. El desmalezado mecánico se hizo con azada y para el control sanitario de larvas cortadoras (*Argyrotaenia sphaleropa*) se utilizó el producto químico de marca comercial Galgotrin, conteniendo el principio activo denominado cipermetrina al 25%, a una dosis de 10 ml.L⁻¹.

Los tratamientos consistieron en 10 clones de yerba dulce designados como: T1-STE21, T2-STK1, T3-STK3, T4-STK5, T5-STK6, T6-STK9, T7-STK10, T8-STK11, T9-STK12 y T10-STK13.

El trabajo se inició el 1.º de septiembre de 2010, cuando se realizó una poda de uniformización a la totalidad de las plantas, cortando los tallos primarios a nivel del suelo con tijera de podar. Posteriormente, cuando se observaron los primeros rebrotes, se comenzó a registrar los datos en planillas confeccionadas para tal fin. A medida que los brotes se diferenciaban en tallos primarios se escogieron al azar tres de ellos, los cuales se identificaron con cintas de color amarillo, rojo y azul (colores que se encontraban en las planillas de toma de datos), cada una de estas fueron atadas en la base de los tallos, con la finalidad de hacer el seguimiento a los mismos durante todo el ciclo de la planta.

A continuación se describen las metodologías utilizadas para registrar los datos de las variables morfológicas y fenológicas seleccionadas:

- **Número total de hojas expandidas:** se contaron las hojas de los tallos primarios y secundarios que se encontraban marcados con las cintas de colores. Al final de cada conteo semanal se procedió a marcar con pincel y pintura de tela color blanco las últimas hojas expandidas, tanto de los tallos primarios como de los secundarios. En la siguiente toma de datos se realizó el conteo de las nuevas hojas desarrolladas por encima de dichas marcas.
- **Número de tallos primarios:** se realizó el conteo de todos los tallos primarios (tallos provenientes del cuello o corona de la planta).
- **Número de tallos secundarios/tallo primario:** se contabilizaron únicamente los tallos secundarios que se desarrollaron en las axilas de las hojas de los tallos primarios que poseían las cintas en su base.
- **Número de entrenudos/tallo:** Se contabilizaron, únicamente, los entrenudos de los tallos principales que poseían las cintas en su base.
- **Altura en cm:** se utilizó para ello un metro, se midió desde la base de la planta hasta el ápice del tallo más alto.
- **Peso de 1000 semillas oscuras (en gramos):** para cuantificar esta variable se procedió primeramente a la cosecha de semillas; para ello se utilizó una bolsa de polietileno negro de 10 litros de capacidad. La parte superior de la planta se introdujo en una bolsa e inclinada a 45 grados con respecto al suelo, se realizó un movimiento violento con el propósito de desprender las semillas maduras de la planta, quedando dentro de la bolsa. Luego, las semillas cosechadas se volcaron en recipientes de un litro de capacidad con su identificación correspondiente. Después de la cosecha, en el laboratorio, se procedió a separar las semillas claras de las oscuras y estas últimas se pesaron en una balanza de precisión.

Al no existir una metodología para registrar los datos fenológicos basándose en el tiempo térmico para yerba dulce, se propuso el siguiente método: se utilizó la fórmula de constante térmica Método Residual, la cual utiliza la sumatoria de la temperatura media en °C (grados centígrados) menos la temperatura base en °C establecida para el cultivo ($\Sigma T \text{ media} - T \text{ base}$). Las temperaturas medias se obtuvieron del Boletín Agro-meteorológico de la EEA Cerro Azul, Misiones, y la temperatura base seleccionada fue 10 °C, ya que a partir de esta, la planta de yerba dulce reanuda su actividad (Mizukami *et al.*, 1983).

Las variables seleccionadas para ser estudiadas fueron las siguientes:

- **Tiempo térmico etapa vegetativa:** se determinó el tiempo térmico en grados día acumulados desde el inicio de brotación hasta el fin de producción de hojas.
- **Tiempo térmico botón floral (inicio etapa reproductiva):** se determinó el tiempo térmico en grados día acumulados desde el inicio de brotación, hasta la aparición del primer botón floral.
- **Tiempo térmico en botón floral:** se determinó el tiempo térmico en grados día acumulados desde inicio del botón floral hasta la finalización de este.
- **Tiempo térmico en fase flor abierta:** se determinó el tiempo térmico en grados día acumulados desde la aparición de las primeras flores abiertas hasta que no se observaron más flores en dicho estado.
- **Tiempo térmico en fase de fructificación:** se determinó el tiempo térmico en grados día acumulados desde el inicio de aparición de frutos hasta el final de fructificación.

- **Tiempo térmico etapa reproductiva:** se determinó el tiempo térmico en grados día acumulados desde el inicio de botón floral hasta fin de fructificación.

Diseño experimental

El diseño experimental utilizado fue el completamente aleatorizado, con tres repeticiones por cada tratamiento establecido.

Los resultados obtenidos de las variables fenológicas y morfológicas fueron sujetos a un análisis de varianza (ANOVA), con un posterior test de comparación múltiple (Duncan) a un nivel de significancia del 5%, excepto para la variable peso de 1000 semillas oscuras, la cual solamente registró una sola repetición por cada tratamiento. Todos los análisis fueron realizados con el programa InfoStat versión 2011 (Di Rienzo *et al.*, 2011).

RESULTADOS

Variables morfológicas

Analizando las variables morfológicas se observó que los mayores valores obtenidos para el número total de hojas expandidas se registraron en los clones T3-STK3 y T4-STK5, presentando valores por encima de las 1186 hojas por planta, encontrándose diferencias significativas entre estos y los clones T10-STK13 y T8-STK11 que no superaron las 757 hojas expandidas por planta (tabla 1). También se halló que para la variable número de tallos primarios, los valores de las medias se encontraron entre 1,56 y 3,2 tallos/pl no difiriendo significativamente ninguno de los clones (tabla 1). Sin embargo, se registraron diferencias estadísticamente significativas en el número de tallos secundarios/tallo, presentando los mayores valores medios los clones T2-STK1 y T3-STK3 (superiores a 67 tallos secundarios/tallo).

Los mayores valores obtenidos para el número de entrenudos/tallo se observaron en los clones T4-STK5, T2-STK1, T3-STK3 y T1-STE21 (medias superiores a 34 entrenudos/tallo). No se encontraron diferencias significativas entre los clones citados anteriormente, pero sí se detectaron entre estos y los restantes. Para la variable altura de planta en cm, los valores de las medias de los clones estudiados se encontraron entre 93,28 cm y 127,8 cm (el 70% de estos superaron los 100 cm; tabla 1). También se observó la existencia de diferencias significativas entre los clones T1-STE21, T3-STK3, T8-STK11 y T9-STK12 y los restantes.

Del registro del peso de 1000 semillas oscuras surge que el 40% de los clones presentaron valores superiores a los 0,4 gramos (T1-STE21, T9-STK12, T5-STK6 y T8-STK11) encontrándose el mayor peso en el clon T1-STE21. El restante 60% mostró valores inferiores a los 0,36 gramos (tabla 1). Al no existir repeticiones para el registro de esta variable no se afirma que existan diferencias significativas para los datos obtenidos.

Variables fenológicas

En la figura 1 se aprecia que no existen diferencias significativas para la variable tiempo térmico acumulado hasta el fin de la etapa vegetativa. También se puede observar que los clones T9-STK12, T1-STE21, T2-STK3, T4-STK5 y T5-STK6 requieren valores por encima de 1800 grados día para completar esta etapa. En contraposición a estos se encuentran el 50% de los clones (T2-STK1, T6-STK9, T7-STK10, T8-STK11 y T10-STK12) los cuales requirieron valores por debajo de los 1800 grados día para completar dicha etapa.

Igualmente que para la variable descrita anteriormente, el clon T9-STK12 es el que requiere los mayores valores de tiempo térmico para el inicio de la etapa reproductiva (aparición del botón floral), demandando 1596 grados días.

Tratamientos Clones	N.º hojas expandidas	N.º tallos primarios	N.º tallos secundarios/tallo primario	N.º entrenudos/tallo	Altura cm	Peso 1000 semillas oscuras g
T1-STE21	975 abc	2,2 a	49,4 b	34,8 ab	127,8 a	0,444
T2-STK1	1175,39 a	2,72 a	67,56 a	38,72 a	93,28 c	0,339
T3-STK3	1194,92 a	2,75 a	67,17 a	38,5 a	120,17 a	0,343
T4-STK5	1186,73 a	2,91 a	61,64 ab	39 a	94,18 c	0,319
T5-STK6	1076,89 ab	2 a	52 b	32,22 bc	107 b	0,414
T6-STK9	876,33 bc	2,33 a	53 b	30,33 c	107,67 b	0,367
T7-STK10	922,22 ab	1,56 a	54,56 ab	34,11 bc	100,33 bc	0,293
T8-STK11	705,36 c	2,93 a	53,43 b	30,36 c	119,07 a	0,413
T9-STK12	1125,6 ab	3,2 a	55,5 ab	35,2 ab	125,6 a	0,419
T10-STK13	756,42 c	2,08 a	49,83 b	33,67 bc	97,33 bc	0,322

Tabla 1. Valores medios de las variables morfológicas: número de hojas expandidas/planta, número de tallos primarios/planta, número de tallos secundarios/tallo primario, número de entrenudos/tallo, altura de planta en cm y peso de 1000 semillas oscuras.

Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos para una misma variable de acuerdo con el test de Duncan ($p < 0,05$).

Para esta variable se detectaron diferencias significativas entre el clon T9-STK12 y los clones T10-STK13, T6-STK9, T2-STK1 y T1-STE21 (figura 1). Este último es el que presenta mayor precocidad para el inicio de la etapa estudiada (857 grados día).

En la figura 2 se puede apreciar el comportamiento de los clones en la etapa reproductiva (medido en tiempo térmico) y, dentro de esta, sus correspondientes fases (botón floral, flor abierta y fructificación). Con respecto al tiempo térmico necesario para completar la etapa reproductiva, el mayor requerimiento se observó en el clon T1-STE21 (1664 grados día), el cual difirió significativamente del 80% de los clones estudiados (T2-STK1, T3-STK3, T5-STK6, T6-STK9, T7-STK10, T8-STK11, T9-STK12 y T10-STK13), los que mostraron requerimientos menores a 1400 grados día.

También se observó que, para finalizar la fase de botón floral, nuevamente el clon T1-STE21 demandó la mayor acumulación de tiempo térmico (957 grados día), difiriendo significativamente de los demás clones. Los clones que acumularon menor tiempo térmico fueron el T7-STK10 y T9-STK12, registrando valores por debajo de 400 grados día para completar la fase.

El tiempo térmico necesario para completar la fase flor abierta en los diferentes clones se encontró entre 600 y 1700 grados día (figura 2). El máximo valor se registró

en el clon T8-STK11 (1609 grados día), este clon difirió significativamente de los clones que demandan menos de 1300 grados día para finalizar la fase (T2-STK1, T3-STK3, T4-STK5, T5-STK6, T6-STK9, T7-STK10, T9-STK12 y T10-STK13).

Con respecto al tiempo térmico necesario para finalizar la fase de fructificación, el mayor requerimiento se observó en el clon T1-STE21 (1254 grados día), difiriendo significativamente de los demás clones.

DISCUSIÓN

Variables morfológicas

En lo que respecta a las variables morfológicas estudiadas, los resultados obtenidos para el número de tallos primarios concuerdan con lo reportado para la variedad Iguazú CTM, la cual registró de 1 a 5 tallos primarios en el primer ciclo luego de una única poda de uniformización, clasificándose como variedad de mediana cantidad (INASE 2005). Sin embargo, Molero (1984) menciona datos preliminares de 40 tipos de yerba dulce mostrando valores promedio de 10,3 tallos/planta, los cuales son muy superiores a lo obtenido en los clones estudiados. Contrariamente con lo reportado en la variable anterior, la variedad Iguazú CTM supera ampliamente a los clones en el número de tallos se-

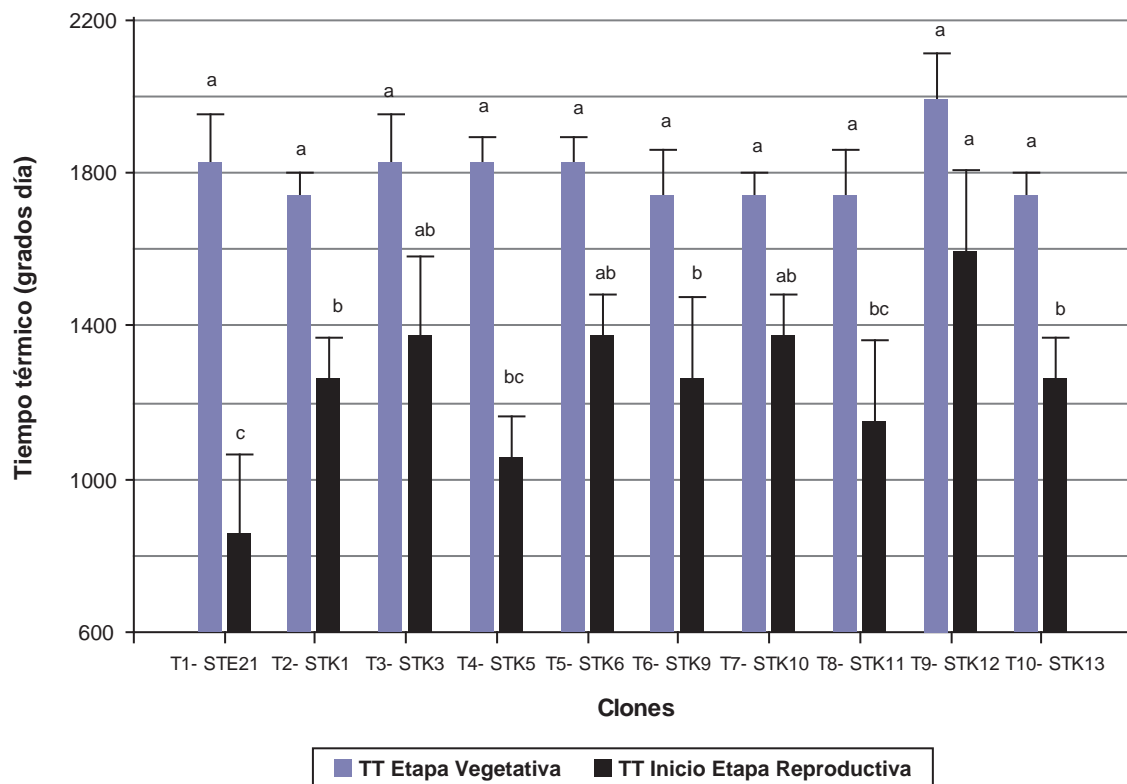


Figura 1. Valores medios de las variables fenológicas (tiempo térmico etapa vegetativa, tiempo térmico hasta inicio etapa reproductiva) expresados en grados día. Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos para una misma variable de acuerdo con el test de Duncan ($p < 0,05$).

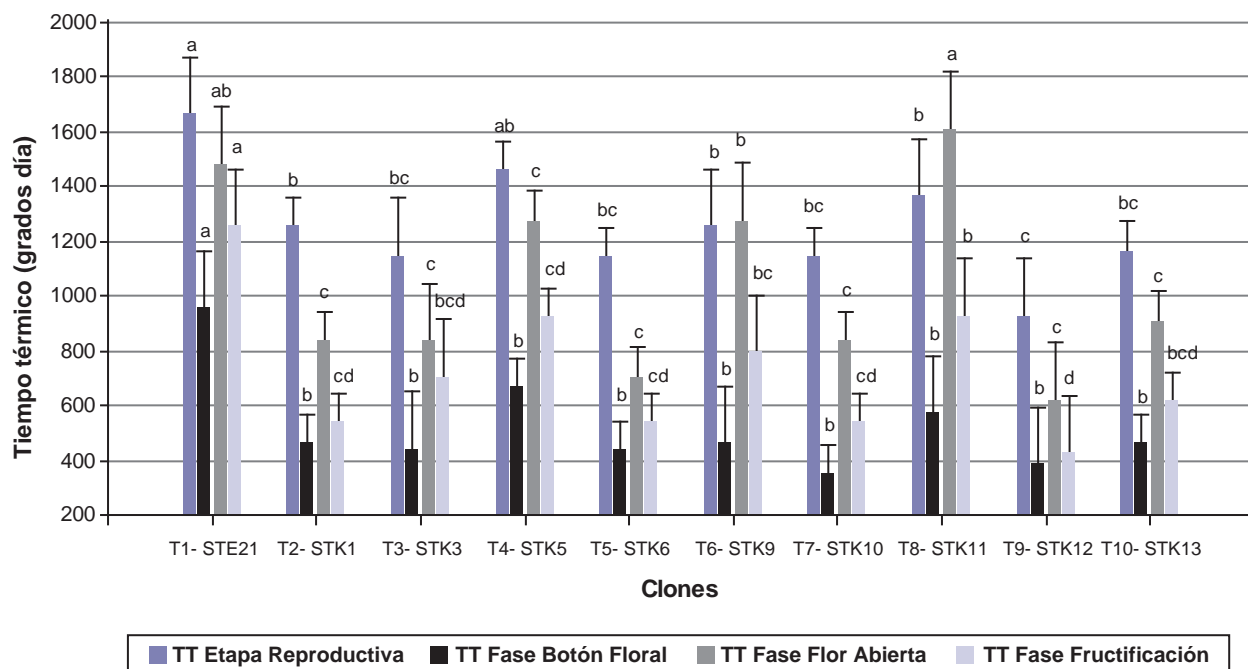


Figura 2. Valores medios del tiempo térmico de la etapa reproductiva y sus respectivas fases (tiempo térmico fase botón floral, tiempo térmico fase flor abierta y tiempo térmico fase fructificación) expresados en grados día. letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos para una misma variable de acuerdo con el test de Duncan ($p < 0,05$).

cundarios, ya que presenta entre 80 a 150, clasificándose como variedad muy ramificada (INASE 2005).

Existen pocos trabajos publicados que reporten características morfológicas de yerba dulce. Sin embargo, Molero (1984) registró en su investigación 12 variables morfológicas en una colección de esta especie. Una de dichas variables fue el número de entrenudos en el tallo, para esta variable obtuvo un promedio de 18,9 (entrenudos) valor inferior a lo alcanzado por todos los clones en esta investigación. Otros investigadores como Casaccia y Álvarez (2006) presentan en su informe algunas características de la variedad clonal IAN/VC-142 (EIRETE) la cual posee un porte alto pudiendo alcanzar 120 cm de altura, valor similar a los clones con mayores medias registrados en este trabajo. Sin embargo, la descripción morfológica de la variedad Iguazú CTM muestra tallos primarios erectos de 40-70 cm de longitud (INASE 2005).

El peso de 1000 semillas es uno de los componentes de calidad utilizados en yerba dulce junto con la pureza, la viabilidad y la germinación. Randi y Felipe, (1980) obtuvieron los mayores porcentajes de germinación al utilizar semillas más pesadas. Los datos obtenidos del peso de 1000 semillas de los 10 clones superaron a los encontrados en la variedad DULCINEA 777 la cual registró 0,24 gramos (INASE 2005).

Variabes fenológicas

Los clones no poseen grandes diferencias en tiempo térmico para finalizar la etapa vegetativa. Sin embargo, estas

diferencias se aprecian en la etapa reproductiva, la cual muestra una gran variabilidad entre los materiales genéticos estudiados (clones).

Dentro de la etapa reproductiva las fases establecidas tienen gran relevancia. Conocer el tiempo térmico de la fase botón floral nos permite organizar la cosecha de hojas (la cual se realiza en forma manual durante varios días). Esta se efectúa mientras las plantas se encuentran con botones florales (Casaccia y Álvarez, 2006).

Conocer el tiempo térmico requerido para el inicio de la apertura de flores y finalización de la floración (fase de flor abierta), nos permite planificar cruzamientos entre clones que requieran similares cantidades de tiempo térmico acumulado, maximizando la probabilidad de polinización cruzada (Carneiro, 1990). En este trabajo de investigación los clones que evidenciaron mayor probabilidad de cruzamientos (cultivados a campo) son aquellos que requirieron mayor tiempo térmico para finalizar la fase de flor abierta. Utilizando este criterio de clasificación, los clones más aptos son el T8-STK11 y T1-STE21.

La fase de fructificación también presenta su importancia, ya que conocer el desarrollo de esta, permite un mejor manejo de la cosecha de semillas en los huertos semilleros. Los clones estudiados, en general, presentaron un comportamiento similar para esta variable, exceptuando el clon T9-STK12, cuyo requerimiento en tiempo térmico es inferior a todos los demás clones, y el clon T1-STE21 cuyo requerimiento en tiempo térmico es muy superior a los demás materiales estudiados.

CONCLUSIONES

Los datos obtenidos para las variables estudiadas son muy importantes ya que no se tenía un registro detallado del comportamiento de estos 10 clones de yerba dulce.

Se encontraron diferencias morfológicas entre algunos de los clones para las variables número de hojas expandidas, número de tallos secundarios, número de entrenudos y altura de planta en cm. Sin embargo no se registraron diferencias para el número de tallos primarios. Las 2 primeras variables son de gran importancia a la hora de realizar la cosecha comercial de la yerba dulce, ya que una planta con mayor número tallos secundarios, también posee un mayor número de hojas. No obstante, el número de entrenudos y la altura de la planta son parámetros a tener en cuenta cuando se realiza la propagación por estacas. Una planta con mayor altura y mayor número de entrenudos, proporcionará un mayor coeficiente de multiplicación (número de estacas obtenidas por cada planta madre utilizada).

El clon T1-STE21, seguido del T4-STK5, son los que más favorecerían el trabajo de cosecha de hojas, ya que presentan la fase de botón floral más extendida.

Los clones T9-STK12, T1-STE21 y T3-STK3 son los que poseen mejor perfil para ser cruzados. Estos pueden ser utilizados en futuros huertos semilleros porque requieren tiempos térmicos compatibles en fase de flor abierta, de esta forma se puede producir la polinización natural realizada por insectos.

Los registros de las variables fenológicas no fueron comparadas con otros trabajos ya que no se encontraron registros detallados de investigaciones anteriores en la especie.

BIBLIOGRAFÍA

BELLO, M. 1988. Consideraciones metodológicas para estudios fenológicos en árboles templados de coníferas. *Ciencia Forestal* 14, 89-109.

BONDAREV, N.I.; SUKHAANOVA, M.A.; RESHETNYA, O.V.; NOSOV, A.M. 2003. Steviol Glycoside Content in Different Organs of *Stevia rebaudiana* and Its Dynamics during Ontogeny. *Biologia Plantarum* 47 (2), 261-264.

CARDELLO, H.; SILVA, M.; DAMASIO, M. 1999. Tempo-intensidade dos estímulos doce e amargo de extracto de folhas de stévia em doçura equivalente a sacarose. *Ciência Tecnologia Alimento* 19 (2), 163-169.

CARNEIRO, J.W. 1990. *Stevia* produção de sementes. Universidade Estadual de Maringá. Maringá 65p.

CASACCIA, J.; ÁLVAREZ, E. 2006. Recomendaciones técnicas para una producción sustentable de Ka´a He´e (*Stevia rebaudiana* Bertoni) en el Paraguay Caacupe Ministerio de Agricultura y Ganadería, Dirección de Investigación Instituto Agronómico Nacional Agrícola. Manual técnico 8, 51.

DI RIENZO, J.A.; CASANOVES, F.; BALZARINI, M.G.; GONZALEZ, L.; TABLADA, M.; ROBLEDO, C.W. InfoStat versión 2011. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.

FAKHRUL, R.; NORRIZAH, J.; JAAPAR, S.; NOOR ANILIZAWATIMA, S. 2014. The Effect of Potassium Concentrations on the Growth and Development of *Stevia rebaudiana* (Bertoni) and

Production of Stevioside and Rebaudioside A. *American-Eurasian Journal of Sustainable Agriculture* 8 (2), 42-51.

GUEDES, T.; ROSSI, R.; MARTINS, A.; JANEIRO, V.; CARNEIRO, J. 2014. Applying regression models with skew-normal errors to the height of bedding plants of *Stevia rebaudiana* (Bert) Bertoni. *Acta Scientiarum-Technology* 36 (3), 463-468.

IBRAHIM, M.; RODENBURG, D.; ALVES, K.; FRONCZEK, F.; McCHESNEY, J.; WU, C.; NETTLES, B.; VENKATARAMAN, S.; JASSCH, F. 2014. Minor diterpene glycosides from the leaves of *stevia rebaudiana*. *Journal of Natural Products* 77 (5), 1231-1235.

INASE. INSTITUTO NACIONAL DE SEMILLAS 2005. Descripción morfológica fenológica y sanitaria del cultivar. Denominación del cultivar Iguazú ctm y dulcinea para dulcinea. Folio 10-26. (<http://www.inase.gov.ar>. Verificado: 01 de julio de 2014).

JAIN, P.; KACHHWAHA, S.; KOTHARI, S. 2012. Optimization of micronutrients for the improvement of in vitro plant regeneration of *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni. *Indian Journal of Biotechnology* 11 (4), 486-490.

KRYVENKI, M.; DOMÍNGUEZ, M.; GUERRERO, D. 2007. Evaluación de reguladores de crecimiento en el enraizamiento de estacas de yerba dulce. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria Informe Técnico 93, 15 p.

LORENZO, C.; SERRANO-DÍAZ, J.; PLAZA, M.; QUINTANILLA, C.; ALONSO, G. 2014. Fast methodology of analysing major steviol glycosides from *Stevia rebaudiana* leaves. *Food Chemistry* 157, 518-523.

LV, X.; KUANG, P.; YUAN, Q.; LIANG, H.; ZHENG, G. 2014. Preparative separation of steviol glycosides from *Stevia rebaudiana* Bertoni by macroporous resin and preparative HPLC. *Acta Chromatographica* 26 (1), 123-135.

MELIS, M.S.; ROCHA, S.T.; AUGUSTO, A. 2009. Steviol effect, a glycoside of *Stevia rebaudiana*, on glucosa clearance in rats. *Brazilian Journal of Biology* 69 (2), 371-374.

MIDMORE, D.J.; RANK, A.H. 2002. A new rural industry -Stevia- to replace imported chemical sweeteners. A report for the Rural Industries Research and Development Corporation 50p.

MIZUKAMI, H.; SHIIBA, K.; SATOSHI, I.; OHASHI, H. 1983. Effect of temperature on growth and stevioside formation of *Stevia rebaudiana* Bertoni. *Shoyakugaku Zasshi* 37 (2), 175-179.

MOLERO, J. F. 1984. El ka'a he'e, *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni, Análisis bibliográfico y anotaciones hortícolas. Ministerio de Agricultura y Ganadería. Proyecto de intensificación de cultivos en fincas pequeñas. USAID-CREDICOOP. Asunción, Paraguay. Publicación Miscelánea 11, 75p.

NOWER, A. 2014. In Vitro Propagation and Synthetic Seeds Production: An Efficient Methods for *Stevia rebaudiana* Bertoni. *Sugar Tech Journal* 16 (1), 100-108.

PRAKASH, I.; DUBOIS, G.E.; CLOS, J.F.; WILKENS, K.L.; FOSDICK, L.E. 2008. Development of rebiana, a natural, non-caloric sweetener. *Food and Chemical. Toxicology* 46, 75-82.

RAZAK, U.; ONG, C.; YU, T.; LAU, L. 2014. In vitro micropropagation of *Stevia rebaudiana* Bertoni in Malaysia. *Brazilian Archives Biology and technology* 57 (1), 23-28. ROJAS MONTOYA, S.W. 2009. *Stevia* edulcorante orgánico del siglo XXI. Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima Perú. 391p.

RANDI, Á.M.; FELIPPE, G.M. 1980. Detecção de esteviosídeo e substâncias giberelínicas nos aquênios de *Stevia rebaudiana*; efeito de esteviosídeo em germinação. *Revista de Brasileira Botânica* 3, 55-58.

SAGAKUCHI, M.; TATASUIKO, K. 1982. As pesquisas japonesas com *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni e o esteviosídeo. *Ciencia e Cultura* 34 (2), 235-248.

SHOCK, C. 1982. Experimental Cultivation of Stevia Rebaudiana B. in California. University of California Agronomy Progress Report. N.º 122. (<http://ucce.ucdavis.edu/files/repositoryfiles/ca3609p4-61878.pdf>.: Verificado 07 de julio de 2014).

SINGH, P.; DWIVEDI, P. 2013. Efficient micropropagation protocols of regeneration of Stevia rebaudiana Bertoni, an anti-diabetic herb. *Vegetos* 26 (1), 318-323.

SOJEARTO, D.D.; COMPADRE, C.M.; MEDON, P.J.; KAMATH, S.K.; KINGHORN, A.D. 1983. Potential Sweetening Agents of plants origin. *Economic Botany* 37, 71-79.

VAZQUEZ-BAXCAJAY, L.; ROBLEDO-PAZ, A.; MURATALLA-LUA, A. Y CONDE-MARTINEZ, V. 2014. Micropropagación de Stevia rebaudiana Bertoni y detección de steviósidos. *Bioagro* 26 (1), 49-56.