

Caracterización de un cultivar de *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni (Asteraceae-Eupatorieae) a partir de morfología vegetativa, reproductiva y morfoanatomía foliar

Characterization of a variety of *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni (Asteraceae - Eupatorieae) from vegetative and reproductive morphology and morphotoanatomy leaf

Ysbelia Sánchez García ⁽¹⁾
ysbe1576@gmail.com

Rosa Mary Hernández-Hernández ⁽²⁾
rodama33@yahoo.com.mx

Elizabeth Ramírez ⁽²⁾
Eliza2030@gmail.com

María Elena Sánchez ⁽³⁾
manalao23@gmail.com

Chedomiro Belosevic ⁽³⁾
Chedomiro Belosevi

Isabel González ⁽²⁾
isagonzalez62@yahoo.com

Ignacio Castro ⁽²⁾
ignacioalexandercastro@gmail.com

Alejandra Carballo ⁽²⁾
carballoalejandra@gmail.com

Leomar Villarroel ⁽²⁾
villarroeleo@hotmail.com

Roger Vaamonde ⁽³⁾
rogervaamonde7@hotmail.com

⁽¹⁾ Universidad Pedagógica Experimental Libertador.
Instituto Pedagógico de Caracas, Venezuela

⁽²⁾ Universidad Nacional Experimental Simón Rodríguez, Venezuela

⁽³⁾ Consejo Comunal Cordillera del Sur Laguneta de la Montaña, edo. Miranda,
Venezuela

Artículo recibido en abril de 2017 y publicado en septiembre 2017

RESUMEN

Stevia rebaudiana, originaria del Sudeste de Paraguay y Noroeste de Misiones, presenta en sus hojas 'steviosidos' y 'rebaudiosidos' con alto poder edulcorante y propiedades farmacológicas. En Venezuela es de reciente cultivo y sus accesiones son poco conocidas. Se caracterizó un cultivar, mantenido en unidades agrícolas familiares en Laguneta de la Montaña, a partir de morfoanatomía foliar y morfología vegetativa-reproductiva. Se describen según la metodología taxonómica convencional. El estudio anatómico se realizó en secciones transversales de hojas y en aclarados paradérmicos con hipoclorito de sodio. Los individuos presentan tallos erectos, cilíndricos, pubescentes. Hojas opuestas decusadas, trinervadas, peciolo alado. Inflorescencias terminales y axilares; corimbos de capítulos con flores blancas diminutas; involucro con cinco filarios desiguales. Fruto cipselas. Hojas bifaciales, anfiestomáticas, índice estomático $X=23,95$, índice de empalizada $X=2,5$. El cultivar de *Stevia rebaudiana* estudiado presenta características morfológicas y anatómicas similares a los cultivares cercanos genéticamente a la variedad criolla de Paraguay.

Palabras clave: *Stevia*; unidades agrícolas familiares; edulcorante natural

ABSTRACT

Stevia rebaudiana, originating in Southeastern Paraguay and Northwest of Misiones, presents in its leaves 'steviosides' and 'rebaudiosides' with high sweetening power and pharmacological properties. In Venezuela it is of recent culture and its accessions are unknown. It was characterized a cultivar, maintained in family farms in Laguneta de la Montaña, from foliar morphoanatomy and vegetative-reproductive morphology. They are described according to the conventional taxonomic methodology. The anatomical study was performed in leaf cross sections and in paradermics clarified with sodium hypochlorite. Individuals have erect, cylindrical, pubescent stems. Leaves are opposite decocted, trinervate, winged petiole. Inflorescences, terminal and axillary; inflorescences with tiny white flowers; Involved with five unequal bracts. Fruit is achene. Amphistomatic leaves, stomatal index $X=23.95$, palisade parenchyma index $X=2.5$. The studied *Stevia rebaudiana* cultivar presents morphological and anatomical characteristics similar to the cultivars genetically close to the wild variety of Paraguay.

Key words: *Stevia*; family farm units; natural sweetener

INTRODUCCIÓN

Stevia Cav. es un género de plantas nativa de América Central y América del Sur, circunscrito a la tribu Eupatorieae de la familia Asteraceae Bercht. y J. Presl (familia del girasol, el diente de león y las margaritas, entre otras muy conocidas) y cuenta con un rango de especies descritas comprendido entre 150 a 644, aproximadamente (Gentry, 1996), con 265 especies aceptadas (The Plant List, 2013). *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni está conformada por plantas herbáceas con un cariotipo de $2n=22$, que pueden alcanzar de 40-80cm (en estado natural) hasta 100cm (en cultivos). Son especies perennes, con reproducción sexual cruzada (alógama). En cultivo se propaga asexualmente por esquejes y/o acodos (Jarma et al., 2005; Martínez et al., 2007; Madan et al., 2010). Es originaria de la Sierra Amambai del Alto de Paraná, nativa del Sudeste de Paraguay y Noroeste de la Provincia de Misiones y ha sido llamada por los indios guaraníes paraguayos como Kaá-hée (Mantilla y Moreno, 2007). También es conocida con más de once nombres en diferentes idiomas, entre ellos Hierba dulce, por las sustancias denominadas 'steviósidos' y 'rebaudiósidos' que poseen alto poder edulcorante.

El esteviósido es el glucósido más abundante de la planta, se le estima un poder edulcorante mayor al del azúcar común, al ciclamato, la sacarina y el aspartame, por lo que es una de las principales fuentes naturales de edulcorantes no calóricas y se utiliza como alternativa a los substitutos del azúcar producidos artificialmente (Duke, 1993). Por lo tanto, este glucósido, a través del consumo de *S. rebaudiana*, puede ser empleado por diabéticos e incluso obesos, y se le atribuyen diversas propiedades como digestivas, diuréticas, antioxidantes, desintoxicantes, e incluso podría ayudar a regular el funcionamiento de la insulina (Bravo et al., 2009). También presenta propiedades antimicrobianas, antifertilidad, hipoglicémica e hipotensiva (Cabanillas y Díaz, 1999).

La parte más empleada de la planta son las hojas, al poseer la mayor concentración de azúcares con respecto a los otros órganos de las plantas que - excepto las raíces- presentan estas sustancias (Akintunde, y

Osman, 2011). Cuando esta planta es cultivada, se pueden realizar hasta 5 cosechas al año, durando comercialmente un sistema productivo entre seis años y nueve años, dependiendo de las condiciones de manejo que se le haya dado (Jarma et al., 2005).

El primer cultivo de forma comercial se reporta en Paraguay en 1964, posteriormente, se expandió a Brasil, Indonesia, Estados Unidos, Tanzania, Canadá, México y Corea en 1990. Desde los 70's los extractos de *S. rebaudiana* han sido empleados como sustitutos del azúcar (Madan et al., 2010). Actualmente, se cultiva comercialmente en Japón, China, Corea del Sur, Taiwán, Tailandia, Paraguay y Brasil, y más recientemente en Colombia y Venezuela (Cabanillas y Díaz, 1999; González et al., 2014).

Se ha publicado una amplia variabilidad genética, expresada en el tamaño de la planta, periodos de floración, contenido de esteviósidos (desde 2 - 10%) (Oliveira et al., 2004). Sin embargo, por ser un cultivo de reciente introducción en diferentes tipos de agroecosistemas; las técnicas de manejo, los genotipos utilizados, los requerimientos hídricos y nutricionales y, en general, el desconocimiento del cultivo per se, han sido limitantes para una producción sostenible y eficiente (Eafit, 2004, cit. Jarma, 2008). Por esta razón es necesario conocer más de la especie y sus variedades agronómicas, para definir formas de manejo agrícola a nivel comercial o familiar en sus patios productivos, donde se incluya el manejo de la fertilidad integral del suelo, riego, prácticas conservadas de siembra y secado, entre otros. El éxito dependerá en principio del conocimiento que sobre el cultivo se tenga (Jarma, 2008).

Debido a que esta especie se reproduce sexualmente, siempre que los polinizadores como abejas melíferas estén presentes, el cultivo exhibe una gran diversidad fenotípica en sus poblaciones naturales, que sumada a las condiciones ambientales, provocan diferencias marcadas en cuanto a la cantidad y calidad de los azúcares producidos (Jarma et al., 2005). Son pocos los reportes sobre esta variabilidad fenotípica en países de reciente producción, como es el caso de Colombia (Martínez et al., 2007) y ahora en Venezuela, lo cual es fundamental para tomar decisiones de

manejo, propagación, cosecha y comercialización de sus hojas y productos derivados.

Actualmente, existe una alta variedad de líneas de cultivares de *S. rebaudiana*, estas variedades pueden exhibir una alta diferenciación morfológica e incluso niveles de ploidía, que se traducen en plantas de mayor porte, incremento en el tamaño de los órganos y de las células e incluso mejor adaptabilidad (Oliveira *et al.*, 2004).

En Venezuela, apoyada la comercialización de *Stevia rebaudiana* por políticas de estado para contrarrestar la problemática en cuanto al consumo de azúcares por parte de la población, ha hecho que su cultivo sea reciente y creciente a pequeña y mediana escala de producción. Sin embargo, es poco lo que se sabe de la variedad de los cultivares utilizados, siendo introducidas principalmente desde su país de origen Paraguay. La planta se comercializa en varios viveros de Caracas, principalmente para su uso doméstico (provenientes de Colombia y/o Paraguay), igualmente se conoce de productores a nivel comercial en Táchira, Mérida, Aragua y Yaracuy, con investigaciones realizadas en el IDEA y en UCV-FAGRO, a partir de la variedad identificada como Morita II, proveniente de Colombia.

Los caracteres morfo-anatómicos vegetativos con valor taxonómico para la identificación de las especies de *Stevia*, corresponden a tipos de tricomas, ubicación de estomas, cavidades secretoras asociadas a los haces vasculares de la nervadura central y peciolo, presencia de granos de almidón en el parénquima asociado a los haces vasculares y colénquima cercano a los haces vasculares (Arias, 2005). Benítez *et al.* (2010) indican que los índices de empalizada y estomáticos, pueden ser utilizados como elementos de apoyo para identificar la autenticidad de hojas de *Stevia rebaudiana*, comercializadas actualmente en diferentes centros de venta del Paraguay, además de la caracterización propia del tejido epidérmico, tanto adaxial como abaxial, tipos y ubicación de estomas.

Considerando los antecedentes previos, se propuso estudiar la morfoanatomía foliar y descripción morfológica de órganos vegetativos y

reproductivos de *Stevia rebaudiana* ubicada en la localidad de Laguneta de la Montaña Municipio Guaicaipuro estado Miranda, con la finalidad de realizar la caracterización del cultivar señalado, para su posterior manejo de propagación y siembra con enfoque de conservación, que sirva como modelo agroecológico para unidades agrícolas familiares.

MÉTODO

Material vegetal

El material vegetal empleado proviene de siete (7) individuos muestreados al azar de un cultivo muy heterogéneo, por su propagación principalmente sexual, en pequeñas unidades agrícolas familiares (UAF) de Laguneta la Montaña (LDML), municipio Guaicaipuro, estado Miranda. Las colecciones herborizadas se encuentran en el Herbario Francisco Tamayo (Colector YSG, N° 105).

Descripción morfológica

Se realizó la descripción morfológica vegetativa y reproductiva empleando una lupa estereoscópica tri-ocular marca ÓPTIMA, siguiendo la metodología convencional en estudios taxonómicos, la cual consiste en la revisión de cada órgano bajo la lupa y en la realización de una lista detalla de todos los caracteres observados en cada individuo estudiado.

Anatomía foliar

Se realizaron preparados semipermanentes con agua y glicerina (1:1) y permanentes con Bálsamo de Canadá (se siguió la metodología de microtecnia de Johansen, 1940). Para ello, se colectaron hojas adultas, completamente expandidas y seleccionadas de las bases de plantas con más de 30cm de altura. El material se lavó con agua corriente, se realizaron cortes rectangulares de la porción media de la lámina y del peciolo, y se fijaron en FAA (5:5:90, formalina: ácido acético glacial: etanol). Se realizaron cortes transversales a mano alzada y en micrótopo

de rotación. Se aplicó tinción con azul de toluidina acuosa (1%) para los cortes a mano alzada. En las muestras procesadas en el micrótopo se empleó una serie alcohólica de deshidratación; terbutanol, alcohol etílico y agua destilada en las siguientes proporciones 50% (10:40:50), 70% (20:50:30), 85% (35:50:15), 95% (50:45:00), 100% A (75:25:00) y 100% B (100:00:00) por 24 horas mínimo en cada frasco. Se hizo la imbibición en parafina y terbutanol al 100%; y seccionamiento en el micrótopo a 14µm. Seguidamente, se realizó la rehidratación del material en una serie alcohólica de etanol absoluto, etanol al 95%, al 70% y al 50% (2 a 3min en cada solución). La tinción se realizó con safranina al 2% (en etanol absoluto). Posteriormente, el material fue deshidratado en una serie alcohólica de etanol al 50%, 70% y 95%, por 1 min. Por último, se aplicó coloración diferencial con Fast-Green al 1% (en etanol 95%) y Organge al 1% (en etanol 95%).

En los estudios epidérmicos las muestras se diafanizaron con calentamiento en soluciones de hipoclorito de sodio al 10% a temperatura ambiente por 24h. Luego se colocaron en un portaobjetos y se tiñeron con azul de toluidina acuosa (1%) o safranina 2% (en etanol absoluto).

Con el material vegetal preparado se realizó la descripción de la anatomía foliar y la determinación del índice de parénquima en empalizada, según la metodología propuesta por Benítez et al., (2010). Este procedimiento consiste en contar el número de células empalizadas contendías en cuatro (4) células de la epidermis adaxial, considerando la relación Ipem (índice parénquima en empalizada = Número de células/4). Con respecto al índice estomático, se calculó la relación del número de estomas/número de estomas adicionado al número de células epidérmicas en la epidermis abaxial. Estos cálculos se realizaron con la finalidad de obtener datos sobre la identidad de la variedad de *S. rebaudiana* estudiada.

Registro fotográfico

Las fotografías en campo se realizaron con una cámara Canon y Los estudios microscópicos se realizaron en un microscopio Leica serie DM,

con toma de fotomicrografías con una cámara Panasonic DMC-FX150, acoplada a los objetivos del microscopio Leica y de la lupa estereoscópica tri-ocular marca +ÓPTIMA.

RESULTADOS

Descripción General del cultivar *Stevia rebaudiana* cultivado en UAF de LDML

Hierbas - subfrúctices, perennes, de 45-50cm, sistema de raíces pronunciado; tallo erecto a veces decumbente, verdoso-amarillento, pubescente, cilíndrico, de poco a muy ramificado, diámetro 0,3-0,5cm, entrenudos cortos y largos (2,4-3,5cm). Hojas simples, opuestas decusadas, pecioladas; peciolo alado (0,5-0,8cm); láminas trinervadas, ovadas - lanceoladas; base cuneada y recurrente; ápice redondeado; borde de la base al centro liso y del centro al ápice serrado-crenado; superficie ligeramente pubescente por ambas caras. *Inflorescencias* terminales y axilares; con corimbos de grupos de 4-5 capítulos; capítulos de cinco flores blancas diminutas (6-7mm); involucro con cinco filarios tomentosos, de longitud variada (5-7mm), papiráceos, cuadrangulares, con pelos tectores y glandulares, de prefoliación imbricada. *Flores* hermafroditas, blancas, corola papilosa tubular con cinco lóbulos, pubescente en ambas caras; estambres 5, con anteras de dehiscencia longitudinal; estilo ensanchado en la base, dividido en dos estigmas de superficie densamente papilosa; polen esférico y equinado. *Fruto* cipselas delgadas, de color marrón al madurar, de forma prismática, con 5 nervaduras principales, superficie ligeramente pubescente con tricomas tectores y glandulares, de 4mm; carpodidio diferenciado en todos los frutos del capítulo; vilanos formados por 14-17 aristas de 4-5mm, con más de 30 dientes; los frutos marrones son fértiles, mientras que los claros son inviábiles.

Morfología Vegetativa de los órganos aéreos

Tallo: cilíndrico, pubescente, de base marrón-ocre y del centro al ápice de verde a amarillento, de poco a muy ramificado (depende de la edad

de la planta), diámetro de 0,3 – 0,5cm, entrenudos cortos y largos (2,4 – 3,5cm), Figuras 1B, 2C, D.

Hojas: Simples, decusadas; láminas trinervadas, de ovales a obovadas; base cuneada y decurrente en el peciolo; con peciolo alado, de 0,5 – 0,8cm; ápice redondeado; borde de la base al centro liso y del centro al ápice de crenado a serrado; superficie pubescente por ambas caras con tricomas glandulares y tectores de varias células (figuras 2A, B).

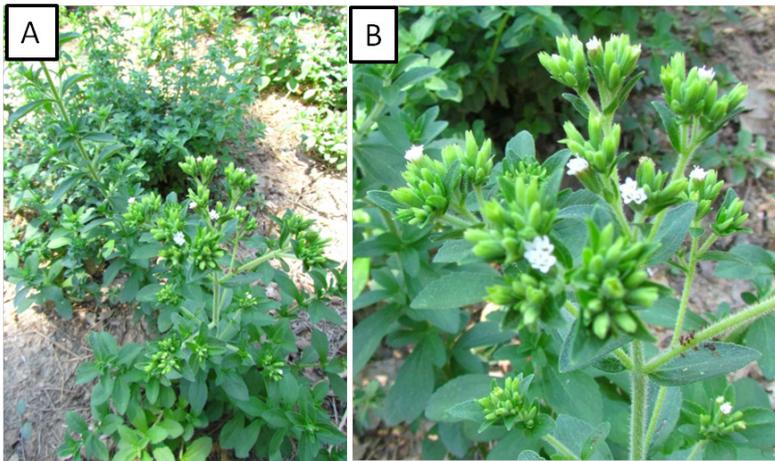


Figura 1. Hábito e inflorescencias de *S. rebaudiana* (Bertoni) Bertoni.

Morfología reproductiva

Corimbos axilares y terminales con 4-5 capítulos (figura 1). Los capítulos contienen cinco flores (figura 2). Involucro con cinco filarios tomentosos de pelos tectores y glandulares (figuras 2C y 3A), papiráceos y cuadrangulares (base ancha y ápice agudo), de longitud variada (tres filarios cortos y dos largos) 5-7mm (figura 3D). Flores blancas hermafroditas, tubulares con cinco lóbulos, pubescente en ambas caras, con tricomas glandulares y tectores pluricelulares en la superficie externa (figura 4E); cinco estambres con anteras de dehiscencia longitudinal (figura 3B). Estilo ensanchado en la base, dividido en dos estigmas de superficie densamente papilosa (figuras 4A, B, D). Polen esférico y equinado (figura 4C).

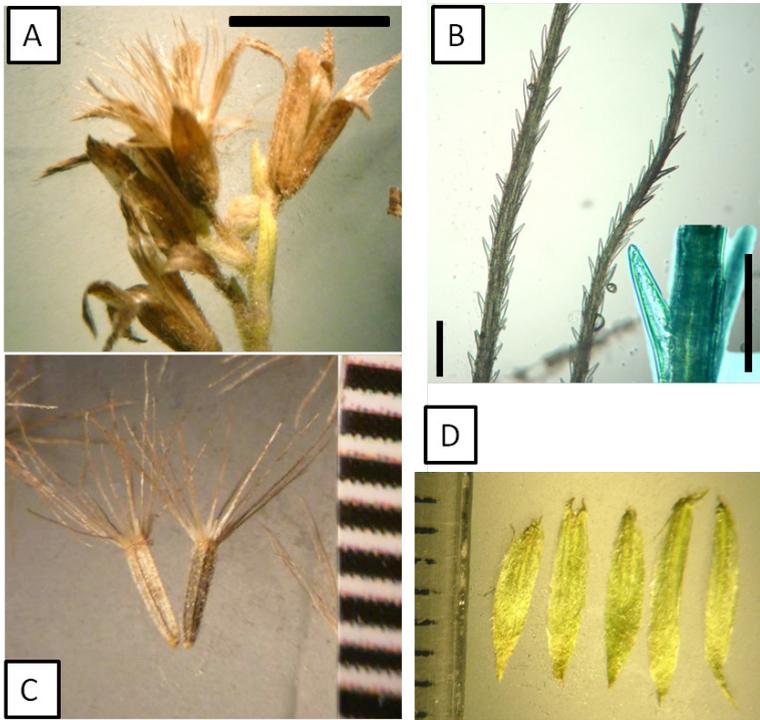


Figura 2. Detalles de inflorescencias y flores. A: Corimbo. B: Androceo y gineceo. C: Capítulo. D: Flores de un capítulo. 5mm escalas en A y B.

Fruto cipselas, forma prismática, con cinco nervaduras principales, de superficie ligeramente pubescente con tricomas tectores y glandulares, de color ocre-marrón, curvos, angosto en la base y de mayor diámetro en la corona, carpopodio diferenciado en todos los frutos del capítulo; vilano aristado, con 14 – 17 aristas de 4-5mm de longitud, de base ensanchada denticulada y ápice agudo, con más de 30 dientes en su superficie, dientes marcadamente unidos entre sí en la base (los primeros 0,5mm) y separados hasta el ápice (figuras 3A-D).



Figura 3. Detalles de las diásporas. **A:** Frutos. **B:** Detalle de aristas y dientes. **C:** Fruto en dispersión. **D:** Filarios de diferentes tamaños. 5mm escala en A. 0,1mm en B y 0,5mm en detalle.

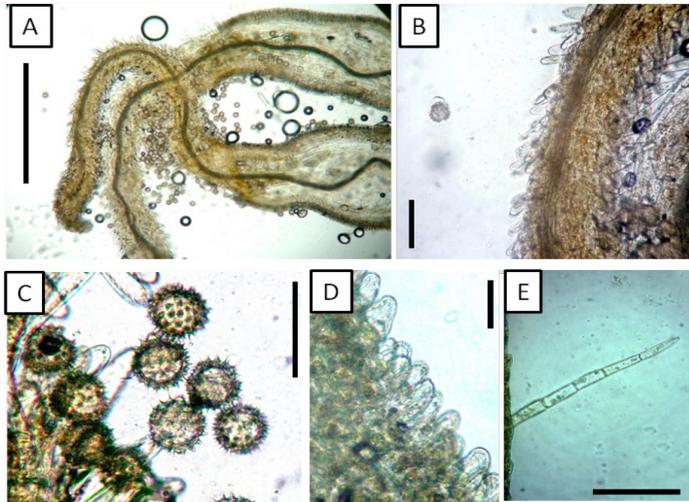


Figura 4. Detalles de los órganos reproductivos. **A:** Estigma. **B:** Células del estigma. **C:** Polen. **D:** superficie del estilo. **E:** Tricoma tector de la corola. Escala 0,5mm en A. 0,1mm en B. 0,05mm en C. 0,05mm en D. 0,5mm en E.

Anatomía de la lámina foliar: epidermis uniestratificada en ambas caras, en sección transversal epidermis adaxial con células rectangulares a ligeramente globosas y de mayor tamaño con respecto a las células de la cara abaxial (figuras 5 y 7). En vista paradérmica, células delgadas, ligeramente alargadas y de contornos sinuosos y tricomas tectores pluricelulares (10 células) con varias células basales (3-4) y estomas anomocíticos muy dispersos (figuras 6C y D). Epidermis abaxial con células subglobosas a cuadrangulares en vista transversal (figuras 5 y 7). En vista paradérmica, células similares a la epidermis adaxial, con mayor número de estomas, tricomas glandulares hundidos en el tejido y tricomas tectores (figuras 6A y B). En ambas caras cutícula delgada con paredes periclinales y anticlinales delgadas. Se observan tricomas tectores en ambas caras de la lámina y tricomas glandulares en la cara abaxial.

Láminas anfiestomáticas, estomas ubicados al mismo nivel de las células epidérmicas, con un índice que varía de 15,38 a 27,21 ($X= 23,95$ y $de= 6,12$). Hojas bifaciales de una a dos capas de parénquima en empalizada con células alargadas y muy unidas entre sí y con índice de empalizada de 2,3 a 2,8 ($X=2,5$ y $de=0,27$). Parénquima esponjoso de cuatro a cinco capas de células con pocos espacios intercelulares, pero con cámaras estomáticas prominentes (figuras 5A y D).

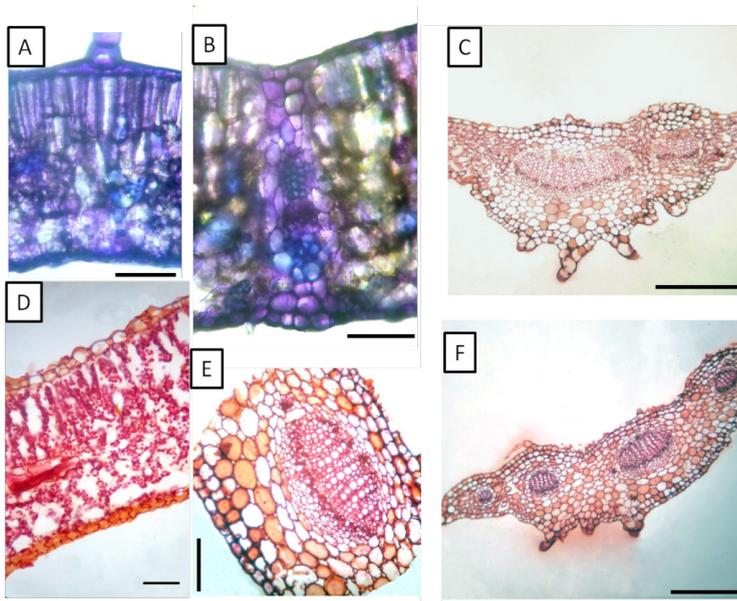


Figura 5. Corte transversal de hoja. **A:** Corte transversal de hoja. **B:** Haz vascular transcurrente. **C:** Nervadura central de hoja. **D:** Corte transversal de hoja. **E:** Haz vascular lateral de peciolo. **F:** Corte transversal de peciolo. Escalas: 1mm en A; 0,05mm en B; 0,15mm en C; 0,1mm en D; 0,05mm en E; 0,25mm en F.

Tejido vascular formado por haces vasculares colaterales cerrados transcurrentes, con células parenquimáticas globosas que comunican el haz vascular con ambas epidermis (figuras 6B y C). Nervadura central con epidermis uniestratificada, células cuadrangulares en vista transversal, por debajo de la epidermis adaxial se observa de una a dos capas de colénquima tangencial y tres capas de parénquima fundamental de menor tamaño con respecto a las células del parénquima fundamental de la cara abaxial de la lámina. Por debajo de la epidermis abaxial se observa una capa de colénquima angular. Se observan prolongaciones celulares simples y pluricelulares (tricomas tectores en formación) en epidermis abaxial (figura 5C).

Anatomía del peciolo: peciolo alado con dos o tres haces vasculares en cada ala (figuras 5E y F). Nervadura central redondeada en la cara

abaxial y ligeramente convexa en la cara adaxial, con un haz vascular central prominente o dividido en tres haces vascular del mismo tamaño. Epidermis adaxial y abaxial con células pequeñas y redondeadas en vista transversal, abundantes tricomas tectores multicelulares en la cara abaxial. Tres capas de colénquima angular y dos capas de parénquima fundamental en la cara adaxial. Dos capas de colénquima angular y siete capas de parénquima fundamental en la cara abaxial (figura 5F).

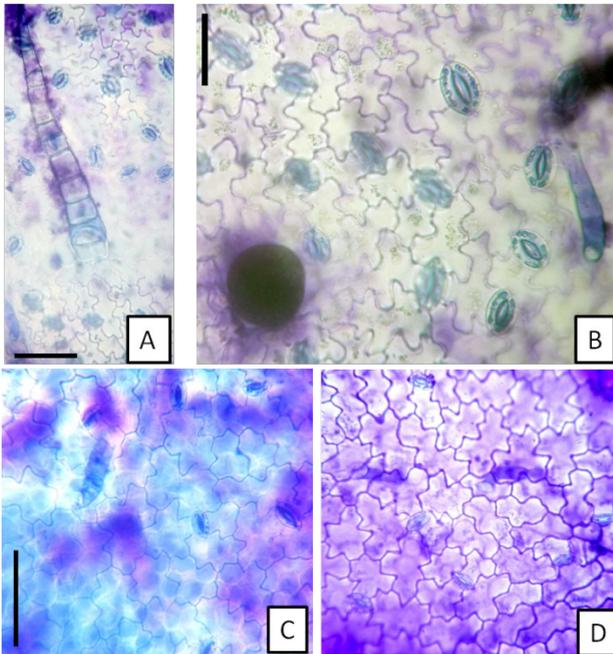


Figura 6. Desprendimiento de epidermis. **A:** Tricoma tector en epidermis inferior. **B:** Tricoma glandular y tector en epidermis inferior. **C:** Epidermis superior. **D:** Epidermis superior. Escala: 1mm en A; 0,5mm en B; 1mm en C.

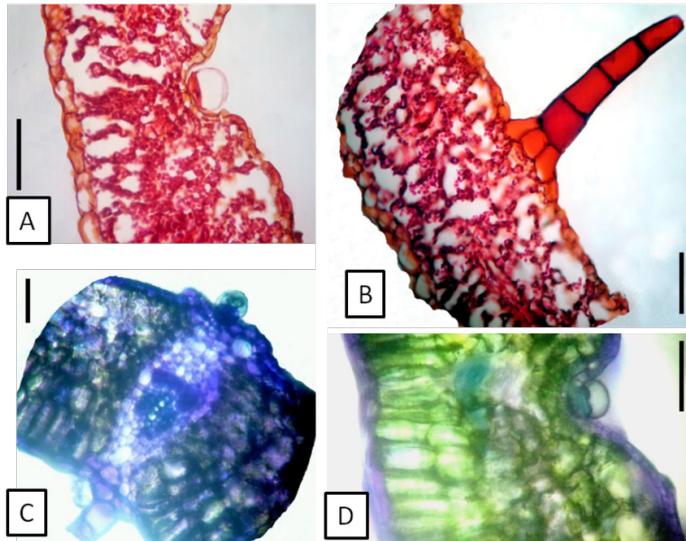


Figura 7. Cortes de lámina foliar. **A:** Tricoma glandular. **B:** Tricoma tector. **C:** Tricoma tector y glandular asociados a haz vascular transcurrente. **D:** Tricoma glandular. 3mm en A, B, C y D.

El cultivar estudiado presenta las características morfológicas vegetativas y reproductivas típicas de la especie *S. rebaudiana* (Gentry, 1996; Benítez et al., 2010; Mada et al., 2010), arbusto de más de 30cm de longitud, hojas con base alada, lanceoladas o forma espatulada, hojas con filotaxis decusada, borde dentado desde el centro al ápice, y liso de la base al centro de la lámina. Flores típicas de las compuestas (familia Asteraceae), bordeadas por un involucre de epicáliz, capítulos en cimas de ramificación simpódica, flores blancas purpúreas, pentámera y aquenios pentanervados.

Algunas de las características mencionadas previamente son compartidas con especies de *Stevia* de crecimiento natural en Venezuela (Arias, 2005), tales como las inflorescencias típicas de compuestas organizadas en corimbos, sin embargo en *S. rebaudiana* son menos densas que en otras especies (*S. incognita*, *S. lucida*, *S. serrata*, *S. triflora*). Las hojas son típicamente opuestas y ligeramente pubescentes

(tricomas como indumento). La forma de la hoja varía notablemente entre especies (Arias, 2005), en el caso de *S. rebaudiana*, se distingue muy bien de otras por la combinación de caracteres, ápice redondeado y forma oblongo-lanceolada, en algunos individuos a veces más lanceolada que oblonga. Esta característica aparentemente plástica, debe ser estudiada *a posteriori*.

En cuanto al involucre, sus características son típicas del género, formado por cinco brácteas uniseriadas. En el caso de *S. rebaudiana*, las brácteas son oblongo-lanceoladas y desiguales en tamaño, con tricomas glandulares y tricomas tectores; bastante parecidas a las exhibidas por *S. caracasana* y *S. elatior* (Arias, 2005).

De acuerdo a su anatomía, algunos caracteres observados, tienen alto valor taxonómico a nivel del género *Stevia*, como por ejemplo, la presencia de haces vasculares colaterales cerrados transcurrentes, con células parenquimáticas globosas que comunican el haz vascular con ambas epidermis (Dematei y Moscheta, 2006; Arias, 2005), además de los tipos de tricomas tectores y glandulares (Arias, 2005; Benítez et al., 2010). En la especie estudiada no se observan cavidades secretoras asociadas al haz vascular central, como ha sido descrito en otras especies de *Stevia*, (Arias, 2005).

Se describen algunas características anatómicas compartidas con *S. elatior*, como la forma del peciolo, estructura del haz vascular y la distribución de los tejidos. Sin embargo, las hojas de *S. elatior* son angulado-ovadas, con ápice agudo y borde aserrado desde la base hasta el ápice, tallos de color púrpura (Arias, 2005); caracteres que difieren notablemente de *S. rebaudiana*.

Los índices de parénquima en empalizada y estomático son propuestos para determinar la autenticidad de las hojas de *Stevia rebaudiana* comercializadas (Benítez et al., 2010). En este estudio, el índice estomático varió de 15,38 – 27,21 ($X=23,95$ y $de=6,12$), valores que se encuentran dentro del rango referenciado previamente en la especie

de 10 – 26, $X= 16,58$) señalado por Benítez et al., (2010). Este valor es considerado un marcador específico y de alto valor en identificación de especies y cultivares de *S. rebaudiana* (Benítez et al., 2010). Con respecto al índice del parénquima en empalizada, se obtuvo un rango 2,3 – 2,8 ($X=2,5$ y $de=0,27$), por debajo al reportado en estudios previos (30 – 45, $X=39$ y $de=0,4$). Siendo una característica de mayor plasticidad en la especie estudiada. Lo encontrado, podría deberse a que los individuos estudiados en el presente trabajo aún no se encontraban expuestos en campo a una alta radiación, factor que influye en el desarrollo del mesófilo foliar. Considerando este resultado, es importante realizar estudios de la anatomía foliar con el cultivar a campo abierto, condiciones en las cuales los individuos podrán expresar su mesófilo foliar en condiciones naturales de crecimiento.

CONCLUSIONES

La combinación de caracteres de la anatomía foliar que la definen como *S. rebaudiana*, son específicamente, la distribución de los estomas, tipos de tricomas y distribución de los mismos, forma de las células epidérmicas en corte transversal y paradérmico, características de los tejidos fundamentales del peciolo y la ausencia de cavidades secretoras.

El cultivar de *Stevia rebaudiana* estudiado expresa características morfológicas y anatómicas similares a los cultivares no mejorados o cercanos genéticamente a la variedad criolla, por tanto se estima que los individuos trasladados a Venezuela podrían provenir de poblaciones naturales de Paraguay.

El conocimiento sobre la identidad de la especie y la variedad a cultivar, es fundamental para definir formas de manejo agroecológico sustentable a nivel comercial y/o familiar.

El cultivar caracterizado será empleado en futuros programas de tratamientos agroecológicos en unidades agrícolas familiares (UAF) en LDML, con miras a procesos de capacitación en la reproducción, cultivo,

cosecha de plantas sanas, para su empleo como endulzante natural en sustitución del azúcar blanca.

Recomendaciones

Es necesario aplicar estudios con marcadores moleculares para identificar con mayor precisión la variedad cultivada por la comunidad de LDLM. Este tipo de estudios se están realizando en Colombia, debido a la diversidad de cultivares introducidos recientemente en este país, donde la combinación de iniciadores EcoR I – AGG / Tru 9I - ATG, demostró capacidad para identificar variedades y permitió establecer agrupamientos de cultivares del departamento de Antioquia (Martínez et al., 2007). Asimismo, sería conveniente realizar estudios citogenéticos para evaluar el nivel de ploidía y así obtener otros argumentos sobre el tipo de cultivar que se está usando en la comunidad de LDML.

Agradecimientos

A los productores de Laguneta de la Montaña y al Consejo Comunal Cordillera del Sur Laguneta de la Montaña por su participación activa y comprometida con el proyecto. También agradecen a CICNAT-FONDEIN UPEL, por el financiamiento otorgado al proyecto 14-098 y a FONACIT por el financiamiento del proyecto PEII 2012-9030.

REFERENCIAS

- Akintunde, R. y M. Osman. (2011). Influence of Genetic Variation on Morphological Diversity in Accessions of *Stevia rebaudiana* Bertoni. *Int. J. Biol.* 3 (3): 66-72
- Arias, J. (2005). Revisión Taxonómica del género *Stevia* Cav. (Asteraceae-Eupatorieae) en Venezuela. Trabajo de Grado (Maestría -Botánica Agrícola) de la Universidad Central de Venezuela. Biblioteca Central de la Facultad de Agronomía
- Benítez, B., Pereira C., González, F. y Bertoni. S. (2010). Morfología y micrografía del ka'a he'e, *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni,

- provenientes de Departamentos de Concepción, Paraguay. *Stevia* 2: 55-67
- Bravo, M., A. Ale, B. Rivera, L. Huamán, D. Delmás, M. Rodríguez, M. Polo y M. Bautista. (2009). Caracterización Química de la *Stevia rebaudiana*. *Rev. Per. Quím. Ing. Quím.* 12 (2): 5-8
- Cabanillas, C. y Díaz, M.P. (1999). Influence of de conditions of storage on the seed quality of *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni. *Acta Hort.* 502: 255-259
- Dematei G. S. De J. y Johansen, I. S. (2006). Anatomia de raiz caule e folha e identificação de estruturas Anatomia de raiz caule e folha e identificação de estruturas secretoras de *Achillea millefolium* L. (Asteraceae). *Acta Sci. Biol. Sci. Maringá*, 28(4): 327–334
- Duke, J. (1993). *Stevia rebaudiana*. En: J Duke (Ed.) CRC Handbook of alternative cash crops, CRC Press, Boca Raton, FL. pp. 422–424
- Gentry, A.H. (1996). A Field Guide of the Families and Genera of Woody Plants of Northwest South America (Colombia, Ecuador, Peru) with Supplementary Notes on Herbaceous Taxa. The University of Chicago Press, Chicago
- González, C., Tapia, M., Pérez, E., Donier, M. y Morel. G. (2014). Caracterización de cultivares de *Stevia rebaudiana* Bertoni de diferentes procedencias. *Bioagro* 26 (2): 79-88
- Jarma, A. (2008). Estudios de adaptación y manejo integrado de *Stevia rebaudiana* Bert.: nueva alternativa agroindustrial del Caribe colombiano. Una revisión. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas* 2 (1): 110-121
- Jarma, A., Rengifo, T. y Araméndiz-Tatis, T. (2005). Aspectos fisiológicos de *Stevia rebaudiana* Bertoni en el Caribe colombiano: I. Efecto de la radiación incidente sobre el área foliar y la distribución de biomasa. *Agronomía Colombiana* 23(2): 207-216
- Johansen, D. 1940. Plant microtechnique. McGraw-Hill New York.
- Madan, S., Ahmad, S., Singh, G.N., Kohli, K., Kumar, K., Singh, R. y Garg. M. (2010). *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni – A Review. *Indian Journal of Natural Products and Resources* 1 (3): 267-286
- Mantilla, W. y Moreno, Y. (2007). Factibilidad para el montaje de una empresa productora y comercializadora de *Stevia* en hoja seca, en

- Bucaramanga. Tesis para optar el título de Profesional el Gestión Empresarial, Universidad Industrial de Santander, Instituto de Educación a distancia, Gestión Empresarial, Bucaramanga, Colombia
- Martínez, D., Rojas, L., Urrea, A., Jiménez, E. y Monsalve, Z. (2007). Caracterización genómica mediante AFLP de *Stevia rebaudiana* Bertoni cultivada en el departamento de Antioquia (Colombia). *Bioteología Vegetal* 7 (2): 107–113
- Oliveira, V., Forni-Martins, E., Magalhães, P. y Alves, M. (2004). Chromosomal and morphological studies of diploid and polyploid cytotypes of *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni (Eupatorieae, Asteraceae). *Genetics and Molecular Biology* 27 (2): 215-222
- The Plant List. (2013). Version 1.1. Disponible en: <http://www.theplantlist.org/> [Consulta: 16 July]