

# Concentración de nutrientes en tres variedades de stevia [*Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni] cultivadas en un Ultisol

Carlos Javier Villalba-Martínez<sup>1\*</sup> y Elmira Oroa-Pfefferkorn<sup>1</sup>

- La stevia [*Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni] es una planta nativa del Paraguay, conocida en el mundo por ser un edulcorante natural.
- En el Paraguay existen tres variedades cultivadas principalmente y la evaluación de su concentración nutrimental permitirá, conocer los requerimientos de la Stevia.
- Este trabajo presenta concentraciones promedio de macronutrientes y micronutrientes en hoja y tallo para las tres variedades más importantes de Stevia.

## Introducción

La stevia es una planta herbácea perenne nativa del Paraguay, conocida por el dulce sabor de sus hojas, utilizada anteriormente por los guaraníes como endulzante y medicina natural ante enfermedades estomacales (Soejarto, 2002; Brandle y Telmer, 2007). En los últimos años ha aumentado la superficie sembrada con esta planta en el mundo, principalmente en el continente asiático y en Latinoamérica en Brasil, Colombia y México (Kim et al., 1996; Ren et al., 2011).

Los compuestos dulces llamados dipertenos glucósidos son los que confieren a las hojas de la stevia su dulzor, y la concentración de estos depende de la variedad, época de siembra y la nutrición mineral de la misma. La hoja de la stevia es lo que se industrializa, ya que la concentración de glucósidos en el tallo es relativamente muy baja (Lemus-Moncada et al., 2012). En Paraguay, la planta puede ser cosechada hasta tres veces en el año, siendo el segundo corte (noviembre a febrero) el más productivo por la mayor cantidad de horas luz.

En el Paraguay las tres variedades de Stevia mayormente cultivadas son la 'Eirete' y la 'Katupyry' que fueron desarrolladas en el Instituto Paraguayo de Tecnología Agropecuaria (IPTA), y que difieren en el dulzor de las hojas. La tercera variedad es la 'AKHL1', resultado del mejoramiento genético en el ámbito privado, que tiene como característica principal su mayor contenido de rebaudiósido A, además de no emitir flores durante el año (Álvarez y Cassaccia 2008; CAPASTE, 2013).

La medición del estado nutrimental de los cultivos es una alternativa para conocer la cantidad de macronutrientes y micronutrientes requeridos por las plantas. La concentración de estos elementos, dependen del tejido vegetal, momento de la cosecha, la especie vegetal y la variedad utilizada, y es una herramienta útil para realizar prácticas de fertilización más precisas (Etchevers, 1989).

Las ventajas de la stevia para la salud humana han promovido que las superficies sembradas aumenten en Paraguay, razón por la cual en los últimos años se han implementado mejoras en las prácticas agronómicas, incluyendo el manejo, la utilización de fertirriego, protectores de

plásticos así también fertilizaciones más rentables. Por lo mencionado anteriormente, esta investigación tuvo como objetivo evaluar el estado nutrimental de tres variedades de stevia, para poder recomendar prácticas de fertilización más precisas para los productores.

## Materiales y métodos

La investigación se realizó en dos periodos de la campaña 2017/2018. Las características químicas del suelo pueden observarse en la **Tabla 1**.

Esquejes obtenidos de plantas madres de las tres variedades ['AKHL1 (Pure Circle 1)', 'Eirete' y 'Katupyry'] fueron distribuidos en un diseño en bloques completos al azar con cuatro repeticiones. El trasplante al campo se realizó a inicios de agosto de 2017 con una densidad de 20 x 20 cm. A los 60 días después del trasplante (DDT) se realizó la poda de uniformización, para fomentar la aparición de brotes basales. Se utilizó riego por goteo. Las evaluaciones tanto químicas como de rendimiento se realizaron en la segunda cosecha por ser la más productiva (Álvarez y Cassaccia, 2008). Fueron evaluadas hojas secas, la acumulación de tallos por planta y la concentración de macronutrientes y micronutrientes en hojas y en el tallo.

Se cosechó al momento de la aparición de los botones florales para las variedades Eirete y Katupyry (80 DDT) y a los 90 DDT para la AKHL1, en base a las recomendaciones agronómicas de Carneiro (2007) y Álvarez y Casaccia (2008).

Para los análisis vegetales, el nitrógeno (N) se cuantificó por el método micro Kjeldahl (Bremmer, 1965). Para la determinación de fósforo (P), potasio (K), calcio (Ca), magnesio (Mg), y micronutrientes [boro (B), cobre (Cu), hierro (Fe), zinc (Zn), y manganeso (Mn)] la digestión se realizó con HNO<sub>3</sub> y HClO<sub>4</sub> (3:1) (Jackson, 1976). La cuantificación de estos se realizó por absorción atómica, con excepción del P, que se determinó por colorimetría.

Se realizaron análisis de varianza (ANOVA) y clasificación de medias mediante la comparación de Tukey ( $\alpha = 5\%$ ) utilizando el programa Statistical Analysis System, versión 9.2 (SAS Institute Inc., 2007).

<sup>1</sup> Universidad Nacional de Caaguazú, Ruta N° 8, Blas A. Garay, Km 138. Coronel Oviedo, Paraguay

\* Autor de contacto. Correo electrónico: villalba.javierdgi@gmail.com

**Tabla 1. Características químicas del suelo.**

Lugar	pH H <sub>2</sub> O	M.O. %	P Bray 1 mg kg <sup>-1</sup>	Ca <sup>2+</sup> ----- (1N pH7) cmol L <sup>-1</sup> -----	Mg <sup>2+</sup> ----- (1N pH7) cmol L <sup>-1</sup> -----	K <sup>+</sup> -----
Coronel Oviedo	5.7	1.6	20	4.8	1.3	0.9

**Resultados y discusión**

En la **Tabla 2** se muestra el resultado del rendimiento de hojas y la acumulación de tallos de las tres variedades de stevia estudiadas; se observan diferencias significativas entre los tratamientos estudiados, donde la variedad AKHL1 es superior a la Eirete y Katupyry en la producción de hojas por planta, en cambio es inferior en la acumulación de tallos.

El producto de interés económico de la stevia son las hojas secas debido a su alto contenido de glucósidos totales (Carneiro 1997; Álvarez y Cassaccia, 2008). Igualmente se observa que las variedades Eirete y Katupyry presentan mayor cantidad de tallos por planta que la AKHL1, es importante recalcar que el tallo no es utilizado como fuente de edulcorante por su bajo contenido de glucósidos totales por lo que es desechado posterior a la cosecha (Álvarez y Cassaccia, 2008).

Los rendimientos de hojas secas obtenidos son superiores a los reportados por Espitia et al. (2008) quienes evaluaron diferentes densidades de siembra de stevia variedades Morita I y II con una producción de hojas secas de 6.34 g planta<sup>-1</sup> (1586 kg 250000 plantas<sup>-1</sup>). Asimismo, Pérez y Calvache (2014) encontraron rendimientos de hoja seca de 14 g planta<sup>-1</sup> y de 10 g planta<sup>-1</sup> de tallo en stevia hidropónica en Ecuador.

La stevia puede adaptarse a diversos ambientes (Mordechai et al., 2013), siendo el fotoperiodo la principal limitante para la producción de hojas (Tavarini y Angelini, 2014); en Paraguay los meses con mayor cantidad de horas luz se encuentran entre octubre y febrero, cuando se observan altos rendimientos en este cultivo.

**Concentración nutrimental**

En la **Tabla 3**, se observa la concentración de macronutrientes y nutrientes secundarios en las hojas de stevia, en análisis realizados en la segunda cosecha.

Los análisis vegetales de tejido seco son una herramienta para conocer el requerimiento interno de los nutrientes, es decir, las concentraciones de los nutrientes a la cosecha, que se encuentran directamente relacionadas con la capacidad productiva de los cultivos, resultante de la interacción con el ambiente y manejo agronómico. Las hojas de las tres variedades de stevia presentan concentraciones de nutrientes similares, a excepción de las de N y K, que son superiores en 'Katupyry' y 'Eirete' sobre 'AKHL1'. Estos datos coinciden con los reportados por Tavarini y Angelini (2014), pero son superiores a los reportados por Jarma et al. (2010) en stevia var. Morita I y II. En trabajos realizados por De Lima y Malavolta (1997), se indica que deficiencias de N en stevia disminuyen el

**Tabla 2. Rendimientos de hojas y tallos de tres variedades de Stevia. Campaña 2017/18.**

Variedad	--- Rendimiento, materia seca g planta <sup>-1</sup> ---		Relación hoja tallo <sup>-1</sup>
	Hojas	Tallos	
AKHL1	21 a	12 b	2:1
Eirete	16 b	27 a	1:2
Katupyry	15 b	26 a	1:2

*Valores en las mismas columnas seguidas por la misma letra son estadísticamente iguales de acuerdo a la separación de medias Tukey (P ≥ 0.05)*

**Tabla 3. Concentración de macronutrientes y nutrientes secundarios en hojas de tres variedades de stevia.**

Variedad	N	P	K	Ca	Mg	S
	----- % -----					
AKHL1	2.50 b	0.26 a	1.49 b	0.65 a	0.24 a	0.23 a
Eirete	2.86 a	0.23 a	2.23 a	0.60 a	0.22 a	0.22 a
Katupyry	3.09 a	0.24 a	1.93 a	0.61 a	0.22 a	0.21 a
<b>Promedio</b>	2.72	0.24	1.88	0.62	0.23	0.22
Desvío estándar	1.9	0.02	0.37	0.03	0.01	0.2
Coficiente de variación (%)	70	8	20	5	4	91

tamaño de las células y aumentan el grosor de las paredes celulares, y que bajas concentraciones de N retrasan el crecimiento, resultando en menores brotes axilares y menor producción de hojas por hectárea.

Las concentraciones de P no presentaron diferencias significativas entre variedades y se encuentran dentro de los intervalos reportados por De Lima et al. (1997a), con un coeficiente de variación de 6%. Este nutriente interviene directamente en la actividad energética de los vegetales, y sus deficiencias pueden afectar varios procesos, incluyendo la síntesis proteica y afectando el crecimiento (Davies et al., 2002).

Por otro lado, el K presentó concentraciones en hojas de las variedades 'Eirete' y 'Katupyry' superiores a las de 'AKHL1' (**Tabla 3**). Los resultados son inferiores a los reportados por Utumi et al. (1999) de 4.36%, pero superiores a los mencionados por Jarma et al. (2010). El K es un activador de muchas enzimas esenciales tanto para la fosforilación fotosintética, como la oxidativa (en la respiración), y además promueve una eficiente translocación de fotosintatos desde las hojas (Wu et al., 1991). Deficiencias de este elemento en stevia conllevan a una menor producción de brotes basales y axilares (De Lima y Malavolta, 1997).

Los resultados observados para Ca y Mg no presentaron diferencias significativas entre las variedades y coinciden con los mencionados por Utumi et al. (1999) y Atteh et al. (2011). El Ca es un elemento estructural de las

plantas y participa en el equilibrio electroestático de la célula, además forma compuestos quelatados, pudiendo aumentar la elasticidad de las paredes celulares al formar un complejo quelatado muy estable con los pectatos de la lamela media (Marschner, 2002). Se han observado síntomas de necrosis apical en primordios foliares de stevia al inducir deficiencias de este nutriente. Así también, el Mg cumple numerosas funciones en las plantas siendo la principal como elemento central de la clorofila (Walker y Weinstein, 1991). No obstante, hasta ahora no se han observado consecuencias de deficiencias de Mg en stevia.

El S es un constituyente de aminoácidos como la cisteína, metionina y cistina, y de las proteínas que los contienen, además de otros compuestos importantes como la tiamina, biotina y la coenzima A, entre otros. Deficiencias de S en stevia provocan clorosis y reducción en el número de hojas nuevas (Utumi et al., 1999). Las concentraciones de S en las variedades no presentaron diferencias estadísticas significativas.

En la **Tabla 4** se observan las concentraciones promedio de micronutrientes en las tres variedades, con coeficientes de variación que no superan el 5%. Para el caso del boro (B) no se observaron diferencias entre variedades. Las concentraciones de B en tejidos vegetales varían ampliamente entre especies vegetales, niveles normales para algunas plantas pueden ser tóxicos para otras, la concentración promedio en tejido vegetal es de 20 ppm. El B es un elemento formativo de las estructuras

**Tabla 4. Concentración de micronutrientes en hojas de tres variedades de stevia.**

Variedad	B	Cu	Fe	Zn	Mn
	----- % -----				
AKHL1	54.3 a	6.6 a	135.3 a	48.3 a	130.2 b
Eirete	52.6 a	6.7 a	136.5 a	50.0 a	132.3 b
Katupyry	53.6 a	6.4 a	134.9 a	49.7 a	142.3 a
<b>Promedio</b>	53.5	6.6	135.8	49.3	134.9
Desvío estándar	0.84	0.17	1.76	6.72	0.88
Coeficiente de variación (%)	16	2.6	1.3	13.6	0.7

**Tabla 5. Concentración de macronutrientes en el tallo de tres variedades de stevia.**

Variedad	N	P	K
	----- % -----		
AKHL1	0.86 b	0.24 a	2.59 b
Eirete	0.90 b	0.26 a	2.80 a
Katupyry	1.10 a	0.26 a	2.51 b
<b>Promedio</b>	0.95	0.25	2.60
Desvío estándar	0.13	0.04	0.20
Coeficiente de variación (%)	13.7	16.0	7.7

**Tabla 6. Requerimientos de macronutrientes por tonelada de hoja seca para tres variedades de stevia.**

Variedad	N	P	K	Ca	Mg	S
kg t <sup>-1</sup>						
AKHL1	25.0	2.6	14.9	7.0	2.6	3.3
Eirete	28.6	2.3	22.3	6.0	2.2	2.2
Katupyry	30.9	2.4	19.3	6.0	2.2	2.1
<b>Promedio</b>	28.2	2.4	18.8	6.3	2.3	2.5

vegetales, y su deficiencia puede ocasionar el desorden en desarrollo completo de algunos tejidos, igualmente la deficiencia afecta a las células del cambium de xilema y floema (Lovatt, 1985).

Las concentraciones de Cu, F, y Zn observadas no presentaron diferencias entre variedades y se encuentran dentro de los intervalos encontrados por Atteh et al. (2011). Estos micronutrientes cumplen funciones estructurales, constituyentes o activadores de enzimas en las plantas (Marschner, 2002). Las concentraciones de Mn fueron mayores en la variedad 'Katupyry' que en 'Eirete' y 'AKHL1', y estas se encuentran por encima de las reportadas por Salisbury y Ross (1994) como promedio de elementos esenciales en plantas. El Mn en stevia activa las enzimas encargadas del alargamiento de las cadenas terpénicas de las cuales se han aislado hasta ahora la geranil pirofosfato sintasa que requiere Mn como cofactor (Suga y Endo, 1991; Kim et al., 1996).

La **Tabla 5** muestra la concentración de macronutrientes en el tallo de las tres variedades de stevia estudiadas. Las concentraciones de N presentan diferencias estadísticas, siendo la 'Katupyry' superior a las demás; en cambio, para el P las diferencias no son significativas, siendo las concentraciones similares a las reportadas por Tavarini y Angelini (2014). En cuanto al K, la variedad 'Eirete' presentó mayores contenidos comparados a la 'AKL1' y 'Katupyry'. La alta concentración promedio de K ( $\bar{x}$ :2.60) en las tres variedades, son superiores a los reportados por Ciampintti y García (2007), en cultivos extensivos cómo maíz, canola, maní y soja. Es importante reiterar que el tallo no es cosechado ni utilizado dentro del proceso industrial de esta planta, pudiendo ser utilizado para otros destinos dada su alta concentración de K.

### Requerimientos de macronutrientes

La **Tabla 6** muestra los requerimientos de macronutrientes por tonelada de hoja seca. Para N, P y K, estos datos son superiores a los mencionados por Jarma et al. (2008) pero coinciden con los reportados por Tavarini y Angelini (2014). Las estimaciones de los requerimientos también pueden diferir con los de otros autores principalmente por el momento de la cosecha y por su dependencia del fotoperiodo y la temperatura. Lo ideal es realizar la cosecha al inicio de la aparición de los botones florales ya que posteriormente disminuye la concentración de los compuestos dulces en las hojas.

### Conclusiones

La variedad 'AKHL1' fue superior a la 'Eirete' y 'Katupyry' en la producción de hojas por planta, presentando una mayor relación de tallo/hoja.

En general, las tres variedades de stevia, presentaron concentraciones similares de macronutrientes y micronutrientes en las hojas y de N, P, y K en tallos. Se observaron diferencias entre variedades en concentración de N, K y Mn en hojas y de N y K en tallos.

Los datos de la concentración nutrimental de K muestran una alta acumulación en el tallo, que pudiera utilizarse para otras actividades productivas ya que no es utilizado en el proceso de industrialización de la stevia.

### Bibliografía

- Álvarez, L.A., y R. Casaccia. 2008. Ministerio de Agricultura y Ganadería del Paraguay. 2008. Producción de Ka'a He'e. 3a. ed., Asunción. Paraguay.
- Atteh, J., O. Onagbesan, K. Tona, J.A. Buyse, E.B. Decuyper, E.B y Geuns, J. 2011. Potential use of Stevia Rebaudiana in animal feeds. Archivos de zootecnia vol. 60, núm. 229, 135. p.
- Bremmer, J. M. 1965. In C.A. Black methods of soil analyses Agronomy 9: 1149-1178. American Society Agronomy. Madison, Wisconsin. USA.
- Brandle, J., y P. Telmer. 2007. Steviol glycoside biosynthesis. Phytochemistry, 68:1855-1863.
- Cámara Paraguaya de la Stevia (CAPASTE). VII Simposio Internacional de la Stevia rebaudiana Bertoni año 2013.
- Carneiro, J.W.P. 2007. Stevia rebaudiana (Bert.) Bertoni: Stages of plant development. Canadian Journal Plant Science. 87:861-865.
- Carneiro, J., A. Muniz, y T. Guedes. 1997. Greenhouse bedding plant production of Stevia rebaudiana (Bert) bertoni. Canadian Journal of Plant Science, 77:473-474.
- Ciampintti, I.A., y F.O. García. 2007. Requerimientos nutricionales, absorción y extracción de macronutrientes y nutrientes secundarios. I Cereales, Oleaginosos e Industriales. Informaciones Agronómicas No. 33, Archivo Agronómico No. 11. IPNI Cono Sur. Acassuso, Buenos Aires, Argentina.
- Davies, T., J. Ying, Q. Xu, Z. Li, J. Li, y R. Gordon-Weeks. 2002. Expression analysis of putative high-affinity phosphate transporters in Chinese winter wheat. Plant Cell Environ. 25:1325-1340.

- De Lima, O., y E. Malavolta. 1997. Sintomas de desordens nutricionais em estévia *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni. *Sci. Agric.* 54(1-2):53-61.
- De Lima, O., E. Malavolta, J. De Sena, y J. Carneiro. 1997a. Absorção e acumulação de nutrientes em estévia *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni: I. Macronutrientes. *Sci. Agric.* 54(1-2):23-30.
- Espitia, M., R. Montoya, y A. Jarma. 2008. *Stevia* en el Caribe Colombiano. Gráficas del Caribe Ltda. Montería – Córdoba. 84 p.
- Etchevers, B.J.D. 1989. Diagnóstico de la fertilidad de los suelos y el estado nutricional de los cultivos. In: Simposio Internacional sobre Tecnologías de Maíz. FIRA, Guadalajara, México.
- Jackson, M.L. 1976. Análisis químico de suelos. Traducido al español J. B. Martínez. Edit. Omega. Barcelona, España.
- Jarma, A. 2008. Estudios de adaptación y manejo integrado de estevia (*Stevia rebaudiana* Bert.): Nueva alternativa agroindustrial del Caribe colombiano. Una revisión. *Rev. Colombia Ciencia Horticultura* 2:109-120.
- Jarma, O., E. Combatt, y J. Cleves. 2010. Aspectos nutricionales y metabolismo de *Stevia rebaudiana* (Bertoni). *Agronomía Colombiana* 28:199-208, 2010.
- Kim, K., Y. Sawa y H. Shibata. 1996. Hydroxylation of ent-kaurenoic acid to steviol in *Stevia rebaudiana* Bertoni - purification and partial characterization of the enzyme. *Arch. Biochem. Bio-phys.* 332(2):223-230.
- Lemus-Moncada, R., A. Vega-Gálvez, L. Zura-Bravo, y K. Ah-Hen. 2012. *Stevia rebaudiana* Bertoni, source of a high-potency natural sweetener: A comprehensive review on the biochemical, nutritional and functional aspects. *Food Chemistry* 132:131-135.
- Lovatt, C. J. 1985. Evolution of the xylem resulted in a requirement for boron in the apical meristems of vascular plants. *New Phytol.* 99:509-522.
- Mordechai S., I. Mwafaq, F. Ravit, C. David, S. Yehoshua, y D. Nativ. 2013. Dynamics of yield components and stevioside production in *Stevia rebaudiana* grown under different planting times, plant stand and harvest regime. *Industrial Crops and Products* 50:731-736.
- Marschner, H. 2002. *Mineral Nutrition of higher plants*. Second Edition. Academic Press. London, U.K. 889 p.
- Pérez, O., y M. Calvache. 2014. Acumulación de nutrientes en *Stevia Rebaudiana* (Bertoni). Congreso Ecuatoriano de Ciencias de Suelos. Esmeraldas 2014.
- Ren, G., X. Liu, y Y. Shi, 2011. Effects of drought stress on physiological indices and dry leaf yield of *stevia rebaudiana* bertoni. *J. Agric.*, pp: 1-6.
- SAS Institute Inc. 2007. SAS OnlineDoc® 9.2. Cary, NC: SAS Institute Inc.
- Salisbury F.B., y C. W. Ross. 1994. *Fisiología vegetal*. Grupo Editorial Iberoamericano S.A: de C. V. México.
- Soejarto, D. 2002. Botany of *Stevia* and *Stevia rebaudiana*. In A. Kinghorn (Ed.), *Stevia: The genus Stevia* London, New York: Taylor and Francis. pp. 18-39.
- Suga, T., y T. Endo. 1991. Geranyl diphosphate synthase in leaves of *Pelargonium roseus*. *Phytochem.* 30(6):1757-1761.
- Tavarini, S., y G. Angelini. 2014. Crop productivity, steviol glycoside yield, nutrient concentration and uptake of *Stevia rebaudiana* Bert. Under mediterranean field conditions. *Soil Science and Plant Analysis*, 45:2577-2592.
- Utumi, M.M., P.E. Monnerat, P.R. Gomes-Pereira, P.C. Rezende-Fontes, y V.P. Campos-Godinho. 1999. Deficiência de macronutrientes em estévia: sintomas visuais e efeitos no crescimento, composição química e produção de esteviosídeo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. 34(6):1039-1043.
- Walker, O., y W. Luttgens. 1991. Further characterization of the magnesium chelatase in isolated developing cucumber chloroplasts. *Plant Physiol.* 95(1):189-196.
- Wu, W., J.S. Peters, y G.A. Berkowitz. 1991. Surface charge mediated effects of  $Mg^{2+}$  on  $K^+$  flux across the chloroplast envelope are associated with regulation of stromal pH and photosynthesis. *Plant Physiol.* 97:580-578.