

Evaluación de diferentes temperaturas para el análisis de germinación de semillas botánicas de ka'a he'e/stevia

Different temperatures evaluation for germination analysis of true botanical seed of stevia

Britos Pedrozo RM^{1*}, Torales Salinas JC², Ayala Aguilera L³.

¹Ing. Agr. Magister *Scientiae* en Producción Vegetal, Técnica Investigadora Instituto Paraguayo de Tecnología Agraria (IPTA). Caacupé, Paraguay.

²Dra. Ing. Agr. Técnica del Servicio Nacional de Sanidad Vegetal. SENAVE, Dirección de Semillas DISE. San Lorenzo, Paraguay

³Prof. Dr. Ing. Agr. Docente de la Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Asunción. San Lorenzo, Paraguay

*Autor para correspondencia (britospedrozo23@hotmail.com)

Recibido: 05/11/2019 Aceptado: 18/12/2019

RESUMEN

Existe un creciente interés comercial en la producción, uso de la planta y el edulcorante producido por el ka'a he'e. En Paraguay, no se cuenta con un padrón oficial para la evaluación de la calidad de las semillas de ka'a he'e, tampoco las reglas ISTA contempla dentro de su lista de especies. El objetivo del trabajo fue determinar la mejor temperatura para la conducción del análisis de germinación de las semillas botánicas de ka'a he'e, comparando la germinación, determinando la velocidad de germinación y el índice de velocidad de germinación a diferentes temperaturas. El ensayo consto de dos etapas desarrolladas en el Instituto Paraguayo de Tecnología Agraria, la etapa de campo se realizó en un cultivo implantado; la etapa del laboratorio, consistió en la evaluación de semillas germinadas a diferentes temperaturas 20°C, 25°C, 30°C, y 35°C, donde se evaluaron la Germinación, la Velocidad de germinación e Índice de velocidad de germinación en semillas provenientes de cuatro cosechas. Según los resultados obtenidos se pudo comprobar que la germinación de ka'a he'e es muy baja, el mayor porcentaje de germinación fue de 13% en la segunda cosecha y las temperaturas ideales para realizar los análisis de germinación de Ka'a he'e se da entre los 20°C y 25°C. La tercera cosecha del año, la de invierno presenta porcentajes de germinación menores al 2%. La Velocidad de germinación y el Índice de velocidad de germinación no fueron afectados con la temperatura.

Palabras clave: ka'a he'e/*Stevia*; temperaturas; germinación; velocidad de germinación; viabilidad.

ABSTRACT

There is growing commercial interest in the production and use of the plant and the sweetener produced by ka'a he'e/*Stevia*, causing a gradual increase in the cultivated area. In Paraguay, there is no official standard for the evaluation of the quality of the seeds of ka'a he'e/*Stevia*, nor the rules ISTA includes within its list of species, those laboratories that carry out the quality analyzes perform in non-standardized form. Currently, 50% of producers still produce by botanical seed. The objective of the work was to determine the best temperature for the conduction of the germination analysis of the botanical seeds of ka'a he'e/*Stevia*, comparing the germination, determining the speed of germination and the rate of germination speed at different temperatures. The experiment consisted of two stages developed in the Paraguayan Institute of Agricultural Technology of Caacupé, the field stage was carried out in an implanted culture; the laboratory stage consisted in the evaluation of germinated seeds at different temperatures 20°C, 25°C, 30°C, and 35°C, where germination, germination speed and germination speed index in seeds were evaluated of four harvests, in the months of December 2017, April, June and December 2018. According to the results obtained, it was found that the germination of ka'a he'e/*Stevia* is very low, the highest percentage of germination was 13% in the second harvest; and the ideal temperatures to perform the germination analyzes of Ka' he' e/*Stevia* is between 20°C and 25°C. The third harvest of the year, that of winter presents germination percentages of less than 2%. The germination rate and germination speed index were not affected with temperature.

Key words: ka'a he'e/*Stevia*; temperatures; germination; germination speed; viability.

INTRODUCCIÓN

El ka'a he'e/Stevia, es una planta arbustiva originaria de Paraguay, en zona de Amambay. Es producido en Paraguay, y en otras partes del mundo, se usa principalmente como edulcorante dietético para alimentos y bebidas, especialmente porque no presenta calorías ni modifica los niveles de azúcares en la sangre. Las hojas se usan en preparaciones medicinales, varios glucósidos, en particular el steviósido proporcionan a esta hierba su sabor que es de 100 a 300 veces más dulce que el azúcar, por lo que se puede usar, como edulcorante.

La semilla es el insumo estratégico para todos los cultivos agrícolas y pasturas. La calidad de los lotes de semillas es el resultado de atributos fisiológicos, genéticos, físicos, y sanitarios; y es un componente esencial para el éxito del establecimiento de los cultivos. En este sentido la germinación y el vigor de las mismas son componentes esenciales para un rápido establecimiento seguido del manejo apropiado de las mismas. Actualmente existe un creciente interés comercial en la producción y uso de la planta y el edulcorante producido ocasionando un aumento paulatino en la superficie cultivada. Sin embargo, en Paraguay no se cuenta con un padrón oficial para la evaluación de la calidad de las mismas. Para la evaluación de la calidad de las semillas de la mayoría de las especies se utilizan las metodologías prescriptas en la regla de análisis de semillas de la Asociación Internacional para el Análisis de Semillas (ISTA) en la cual no se contempla a la Stevia en su lista de especies analizadas. En los diversos laboratorios, se realizan los análisis de calidad en forma no estandarizada, pudiendo no obtenerse la información precisa del estado de la calidad fisiológica de las semillas. De esta forma y teniendo en cuenta que los protocolos de germinación son realizados considerando la temperatura óptima para la germinación, tipo de sustrato que facilite el desarrollo de las plántulas y el tiempo requerido para el proceso de germinación de cada especie y en algunos casos especiales para superación de latencia se verifica la necesidad de evaluar los principales parámetros de las pruebas de calidad fisiológica del ka'a he'e/Stevia.

La hipótesis del trabajo es que las temperaturas afectan el análisis de germinación de ka'a he'e/Stevia.

El objetivo general del trabajo fue determinar la mejor temperatura para la conducción del análisis de germinación de las semillas botánicas de ka'a he'e/Stevia. Los objetivos específicos fueron: comparar la germinación a diferentes temperaturas, determinar la velocidad de germinación y el índice de velocidad de germinación a diferentes temperaturas.

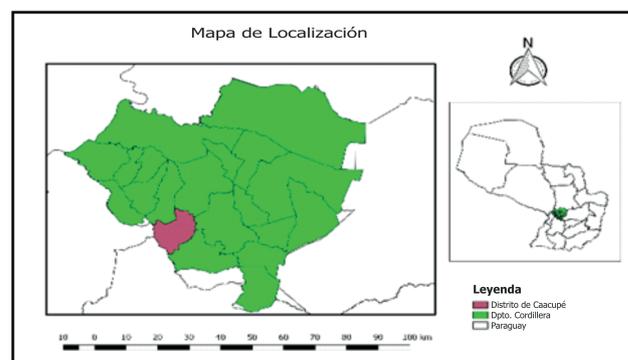
La tecnología de semillas y el análisis de germinación son sumamente importantes en el rubro del ka'a he'e/Stevia ya que ningún laboratorio nacional cuenta con un padrón estandarizado para dicho análisis, y el 50% de los productores de ka'a he'e/Stevia aun realizan la producción con el material nativo, que es multiplicado por semilla botánica.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo experimental consto de dos etapas: la primera etapa de producción de semillas fue desarrollada a campo en un cultivo implantado, hasta la cosecha de semillas que fue realizada en el mes de diciembre del 2017, abril, junio y diciembre del 2018 y la segunda etapa fue desarrollada en el laboratorio inmediatamente después de la cosecha.

El trabajo de campo fue realizado en el predio del Centro de Investigación Hernando Bertoni, en la sede del Programa de Investigación de Ka'a He'e y Plantas Medicinales del Instituto Paraguayo de Tecnología Agraria - IPTA ubicado geográficamente a 25° 24' de latitud Sur, 57° 06' de longitud Oeste, a una altitud de 228 m sobre el nivel del mar, ciudad de Caacupé, km 48; en el Departamento de Cordillera.

El trabajo de laboratorio fue realizado en el Laboratorio de Fitopatología y Entomología del Programa de Investigación de Hortalizas del Instituto Paraguayo de Tecnología Agraria – IPTA.



Obtención de muestras

En la primera etapa del trabajo en las cuatro épocas fueron realizadas las cosechas de semillas botánicas, de una parcela de 5.000 plantas criollas instaladas en el predio del IPTA, la cosecha fue realizada en forma secuencial, cada 8 días; fueron encapuchadas las plantas con una bolsa plástica y sacudidas suavemente durante 30 segundos de manera a propiciar la cosecha de semillas maduras, que se desprenden con mayor facilidad. Las semillas cosechadas fueron mantenidas en bolsas de papel herméticamente cerradas a temperaturas de 6°C y 30% de humedad hasta el uso de las mismas en el laboratorio.

Posteriormente fueron clasificadas manualmente con ayuda de lupas y pinzas, separando las semillas por la coloración oscura y clara del tegumento, aprovechando las oscuras para el experimento.

La etapa del laboratorio consistió en la evaluación de diferentes temperaturas dentro del proceso de germinación de semillas de Ka'a he'e, conforme se detalla a continuación.

Para el ensayo de germinación, velocidad de germinación e índice de velocidad de germinación se realizó con luz constante, y las siguientes temperaturas:

Tratamientos	Temperaturas
T1:	20°C
T2:	25°C
T3:	30°C
T4:	35°C

Diseño para la recolección de datos primarios

Los tratamientos fueron distribuidos en Diseño Completamente al Azar. (DCA) con cuatro tratamientos, cuatro repeticiones, y dos sub repeticiones, siguiendo la metodología establecida por las Reglas ISTA.

Recursos materiales y equipos técnicos

Los materiales utilizados fueron:

Insumos e implementos agrícolas menores, Semillas de ka'a he'e/*Stevia* del material criollo. balanza digital, germinadores, vidriería, papelería, pinzas, alcohol, agua destilada, e insumos de oficina

Descripción del proceso de recolección de datos primarios

Germinación: se realizó la siembra de 100 semillas en placas de Petri por cada tratamiento y repetición, distribuidas en dos placas de 50 semillas, con el sustrato papel, la metodología de siembra fue sobre papel y humedecidas según capacidad de retención del sustrato, y fueron colocadas en los germinadores con control de humedad y temperatura de acuerdo a los tratamientos y la evaluación fue realizada por medio de las lecturas de los datos a los 3, 5, 7, 10, 14, 21 y 25 días después de la siembra y se evaluó contando la cantidad de plántulas normales, anormales, duras, frescas, siguiendo las reglas establecidas en el capítulo V de la Regla de Análisis de Semillas de la Asociación Internacional para el Análisis de Semillas (ISTA 2005). La fórmula que se utilizó para determinar el porcentaje de germinación detallada a continuación:

$$\% \text{ Germinación} = \frac{N^{\circ}SG \times 100}{N^{\circ}SS}$$

Donde:

N°SG = Número de semillas Germinadas

N°SS = Número de semillas Sembrada

Velocidad de germinación: Se realizó la siembra de 100 semillas en placas de Petri por cada tratamiento y repetición, distribuidas en dos placas de 50 semillas en cada sub repetición, en sustrato de papel, la metodología de siembra fue sobre papel, y humedecidas con agua destilada según capacidad de retención y fueron colocadas en los germinadores con control de humedad y temperatura de acuerdo a los tratamientos; las lecturas de los datos fueron evaluadas desde el día tres (3) hasta el día veinticinco (25) después de la siembra y se determinó según la metodología de Manguire (1962) detallada a continuación:

$$VG = \frac{(N_1 \cdot G_1) + (N_3 \cdot G_3) + (N_n \cdot G)}{(G_1 + G_2 + G_3 + G_N)}$$

Donde:

G: Número de plantas normales computadas en el primer, segundo y último contaje

N: Número de días después de la primera germinación.

La toma de datos de cada unidad experimental se realizó de las 50 semillas de cada tratamiento y repetición.

Índice de Velocidad de germinación: Se tomaron las evaluaciones realizadas en el ensayo de velocidad de germinación desde el día tres (3) hasta el día veinticinco (25) después de la siembra y se determinó según la metodología de Maguire (1962).

$$IVG = (G_1/N_1) + (G_2/N_2) + (G_n/N_n)$$

Donde:

G: Número de plantas normales computadas en el primer, segundo y último contaje

N: Número de días después de la primera germinación.

La toma de datos de cada unidad experimental se realizó de las 50 semillas de cada tratamiento y repetición.

El ordenamiento de la información generada fue cargado en planillas electrónicas del programa Excel© y se realizó el análisis de varianza para cada variable con ayuda del Programa INFOSTAT, se utilizó la prueba no paramétrica de Kruskal Walis al 5% de probabilidad de error. Los resultados fueron expresados en tablas, a través de software informático.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Germinación de semillas de Ka'a He'e/Stevia a diferentes temperaturas.

En la Tabla 1, se puede observar el porcentaje de germinación de semillas de Ka'a He'e/ Stevia a diferentes temperaturas, correspondiente a cuatro cosechas, se observan que en la temperatura 20°C y 25°C germinaron 3% de las semillas, a 30°C germinaron 2% de las semillas, mientras que a 35°C no hubo semillas germinadas. No se encontraron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos.

En la cosecha 2, se observa que a 20°C germinaron en promedio 5% de las semillas, a 25°C germinaron en promedio 13%, a 30°C germinaron el 2%, mientras que a 35°C germinó solo 1% de las semillas. No se encontraron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos 3 y 4, siendo diferente el tratamiento 1 y 2. Con esto podemos decir que para la cosecha 2 con 20°C y 25°C, se obtiene el mayor porcentaje de semillas germinadas.

Para la cosecha 3, encontramos que la germinación fue mucho más baja en el tratamiento 1 y 2,

germinaron 2% de semillas, y en el tratamiento 3 y 4 solo el 1 % de las semillas. Esto puede deberse a que la tercera cosecha fue la realizada en invierno, donde la calidad de las mismas es mucho más baja. Para la cosecha 3 no se encontraron diferencias estadísticas significativas para la variable porcentaje de germinación.

En lo que respecta a la cuarta cosecha, se observa que a 20°C germinaron en promedio 11% de las semillas, a 25°C germinaron 10%, a 30°C germinaron 12%, mientras que a 35°C germinó 1% de las semillas. No se encontraron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos 1, 2, 3, siendo estas diferentes y mejor que el tratamiento 4, a 35°C. En observaciones realizadas durante la evaluación se encontraron que a 20°C y 35°C las plantas germinadas eran menos vigorosas que las germinadas a 25°C y 30°C. Las hojas se presentaban más turgentes, con coloración verde brillante, hipocótilo erecto, y raíces bien desarrolladas, mientras que las que germinaron a 35°C tenían una coloración más pálida y el hipocótilo y las raíces se presentaban más raquílicas y menos vigorosas.

Tabla 1. Germinación de semillas de Ka'a He'e/Stevia a diferentes temperaturas, correspondiente a cuatro cosechas. CIHB. Caacupé. 2019

Tratamiento	T °C	C1 %	C2 %	C3 %	C4 %
T1	20°C	3A	5 AB	2 A	11A
T2	25°C	3A	13 A	2 A	10 A
T3	30°C	2A	2 B	1 A	12A
T4	35°C	0 A	1 B	1 A	1 B

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

Velocidad de germinación de semillas de Ka'a He'e/Stevia a diferentes temperaturas.

En la Tabla 2, se observa la velocidad de germinación de semillas de ka'a he'e/ Stevia a diferentes temperaturas, correspondiente a cuatro cosechas. En la cosecha 1 a 20°C las semillas germinaron a los 8,25 días, a 25°C la germinación se inició a los 4 días, a 30°C el inicio de la germinación se dio a los 4,25 días y a 35°C no germinaron las semillas.

En la cosecha 2 se observa que a 20°C las semillas germinaron a los 5,50 días, a 25°C germinaron a los 4,25, a 30°C las semillas germinaron a los 3,50 días y a 35°C en 5,75 días.

En la cosecha 3, podemos decir que, con 20°C

la germinación se dio a los 7,75 días, aquellas semillas sometidas a 25°C germinaron a los 8,00 días, a 30°C las semillas germinaron a los 3,25 días y a 35°C la germinación se dio a los 7,25 días.

Para la cosecha 4 sin embargo se puede ver que a los 5,25 días inicia la germinación a 20°C, a los 6,75 días comenzaron a germinar aquellas semillas sometidas a 25°C, con 30°C la germinación se inició a los 5,75 días, y con 35°C la germinación inicio a los 4,25 días.

No se encontraron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos para ninguna de las cosechas 1, 2, 3 y 4 en lo que respeta a la variable velocidad de germinación.

Tabla 2. Velocidad de germinación de semillas de Ka'a He'e/ *Stevia* a diferentes temperaturas, correspondiente a cuatro cosechas. CIHB. Caacupé. 2019

Tratamiento	T	C1	C2	C3	C4
T1	20°C	8,25 A	5,50 A	7,75A	5,25A
T2	25°C	4,00 A	4,25 A	8,00 A	6,75A
T3	30°C	4,25 A	3,50 A	3,25 A	5,75A
T4	35°C	0,00 A	5,75 A	7,25 A	4,25A

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

Índice de velocidad de germinación de semillas de Ka'a He'e/*Stevia* a diferentes temperaturas.

En la Tabla 3, se presentan los resultados de la variable de Índice de velocidad de germinación, en la cosecha 1, del mes de diciembre observamos que con 20°C no germinan las semillas, con 25°C germinan 0,75 semillas/día, con 30°C vuelve a bajar a 0,25°C, y con 35°C las semillas no germinan.

En la cosecha 2 del mes de abril se observa que, con 20°C, germinó 1 semilla por día, con 25°C germinaron 3,20 semillas por día, con 30°C germinaron de 0,25 semillas por día, y en 35°C no germinaron las semillas. No existe diferencia estadística entre los tratamientos 1 y 2, siendo estas diferentes y mejor que el T3 y T4.

Tabla 3. Índice de velocidad de germinación de semillas de Ka'a He'e/ *Stevia* a diferentes temperaturas, correspondiente a cuatro cosechas. CIHB. Caacupé. 2019

Tratamiento	Temperaturas	C1	C2	C3	C4
T1	20°C	0,00 A	1,00 AB	0,00A	2,25 A
T2	25°C	0,75 A	3,25 A	0,00A	1,75AB
T3	30°C	0,25 A	0,25 B	0,00A	2,25 A
T4	35°C	0,00 A	0,00 B	0,00 A	0,00 B

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

En la cosecha 3 no germinaron las semillas en ninguno de los tratamientos. No se observan diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos.

En la cosecha 4 observamos que con 20°C germinan en promedio 2,25 semillas/día, con 25°C dio 1,75 semillas germinadas por día, y con 30°C tenemos 2,25 semillas germinadas mientras que a 35°C las semillas no germinan. Para la cosecha 4 el tratamiento 1, 2 y 3 no difieren estadísticamente.

El propósito del ensayo de germinación fue determinar el porcentaje de semillas capaces de dar plantines que, en condiciones favorables, sean susceptibles de proseguir normalmente su desarrollo. Los test o ensayos de germinación permiten determinar el potencial de germinación máximo de un lote de semillas y estimar su valor potencial para la siembra en campo (ISTA 2005). Estos test de germinaciones realizadas en

laboratorio ofrecen una primera información respecto a la calidad de las semillas. La velocidad de germinación es el tiempo que necesitan las semillas para germinar.

La germinación de las semillas está entre los eventos más tempranos y drásticos del desarrollo que suceden en la vida de las plantas, pues con él pasan de ser organismos quiescentes a activos, de estar protegidos con una testa a exponerse a todos los elementos del ambiente y de ser heterótrofos a autótrofos. ISTA (2003) considera el proceso de germinación de una semilla como el establecimiento de un estado metabólicamente activo, manifestado fisiológicamente por la división celular y por la diferenciación.

La viabilidad denota el potencial que tiene una semilla para germinar. La longevidad de las semillas está determinada por un balance entre factores intrínsecos y extrínsecos que afectan principalmente los procesos

de reparación y los mecanismos deletéreos del metabolismo (Rodríguez *et al.* 2008).

Además, el período en el que las semillas permanecen viables es extremadamente variable y está determinado genéticamente, aunque los factores ambientales y las condiciones de almacenamiento tienen un efecto decisivo en la duración de la vida de una semilla (Aramendiz *et al.* 2007). Al respecto MAPA (2009) Da Silva *et al.* (2012) nos dice que la semilla de una especie particular puede requerir variaciones en las condiciones para tener resultados precisos.

Según Probert (2000) entre los factores ambientales que influyen en la germinación de una semilla y la velocidad con que ello ocurre se puede mencionar, humedad del sustrato, temperatura, luz, oxígeno, dióxido de carbono, entre otros; de los mencionados, la humedad y temperatura son los más determinantes en el proceso de germinación, y cuando la humedad no es limitante, la tasa y el porcentaje de germinación dependen de la temperatura (Hadas 2004), dato que coincide con el ISTA (2003) que nos dice que la humedad, la aireación, la temperatura y la luz son, para la mayor parte de las semillas, los factores esenciales de la germinación.

El efecto de la temperatura sobre la germinación estaría relacionado con las enzimas que regulan la velocidad de las reacciones bioquímicas que ocurren en la semilla tras su rehidratación (Rajjou *et al.* 2012). Además, la germinación de una semilla se produce dentro de un rango determinado de temperatura, donde es posible identificar: temperatura base, óptima y máxima de germinación, las que pueden ser determinadas experimentalmente (Finch-Savage, 2004).

Contreras (2012) ha demostrado diferencias en la germinación, debidas al efecto de la interacción de la temperatura y el tamaño de la semilla, los porcentajes de germinación fueron más altos en las semillas de especies más grandes que en las más pequeñas. Las semillas pequeñas tuvieron menor porcentaje de germinación, pero mayor velocidad a temperaturas bajas que las semillas de mayor tamaño.

La baja germinación de las semillas también puede deberse a un factor genético, se da en algunas familias; un trabajo realizado por Contreras (2012) con Asteráceas encontró que la germinación de *Machaeranthera pinnatifida*, no fue más allá de un 8% con el tratamiento de 26°C, porcentaje que alcanzó al día 9 y ya no aumentó en el resto del mes. Similar resultado se dio en *Sartwellia mexicana* (Asterácea) el mayor porcentaje de germinación (15%) se obtuvo con el tratamiento de 30°C, la germinación de todos los

tratamientos se concentró en los días 2 al 13.

Estos resultados coinciden con Murillo *et al.* (2018) que en un trabajo realizado sobre viabilidad de semillas con 17 especies encontró que el porcentaje de germinación varía drásticamente entre las especies, a pesar de esto se observa un comportamiento similar a nivel de familia. Asterácea fue la familia que presentó la menor germinación donde las especies no superaron el 56%, además reporta los valores más bajos como 23% y 24%, en un tiempo de 24 a 36 días.

En cuanto a la reproducción sexual del ka'a he'e/Stevia tenemos varias aristas, Melillo (2000) afirma que el ka'a he'e/Stevia se reproduce sexualmente por aquenios, tienen forma de prisma con la parte más amplia en la base (prismático), con 4 o 5 costillas, miden de 2.5 a 4.5 mm de largo, con pelos en la superficie, principalmente hacia el ápice, en el ápice se presenta una estructura llamada vilano que consiste de 3 a 5 filamentos rectos y rígidos (aristas) de 4 a 5 mm de largo que alternan con escamas de hasta 0.7 mm de largo; gran parte de sus aquenios son estériles, livianos y de fácil dispersión por el viento. Los aquenios se clasifican en: claro estéril, oscuro fértil y oscuro estéril. Las semillas más claras, marrón claro o verde, no son fértiles, porque las flores no han sido polinizadas.

Goettemoeller y Ching (1999) mencionan que la planta es auto incompatible y que las semillas polinizadas y claras son infértiles, mientras que Oddone (1997) afirma que el ka'a he'e, tiene dos tipos de semillas, oscuras y claras, color canela. Las semillas de color oscuro normalmente son las fértiles y las claras se consideran las infértiles (Monteiro 1982).

Se observa alta heterogeneidad en las poblaciones resultantes, debido principalmente a la polinización cruzada, la recolección de la semilla es lenta y difícil debido a que la floración no es uniforme, lo que afecta a la maduración de la semilla; la apertura de las flores del capítulo no es simultánea y como sucede en la mayoría de las compuestas, ocurre secuencialmente en dos o tres días. Al ser una semilla muy pequeña resulta muy difícil su manejo para realizar las siembras y los recuentos. En las poblaciones de plantas que crecen espontáneamente se observa gran diversidad fenotípica y también una gran diferencia de contenido de edulcorantes entre las distintas plantas (Fariás *et al.* 2007).

Estas deben guardarse en condiciones de baja temperatura y humedad relativa, preferentemente en la oscuridad y en envases herméticos; sin embargo, el porcentaje de germinación es bajo, entre 10 y 38 % (OMS 1992). Lo que coincide con Sagakuchi *et al.* (1982), Addullatef y Osman (2012) y Monteiro (1982)

que afirman que otras desventajas agronómicas es el bajo porcentaje de germinación de semillas (10 a 38%) que se reduce con el tiempo. La capacidad de germinación de las semillas es muy baja o a veces no ocurre.

Algunas razones de baja fertilidad de las semillas señaladas por Monteiro (1980), Oddone (1999), Purohit (2008) señalan que existe una incompatibilidad esporofítica.

Se puede propagar naturalmente por semilla, pero algunos investigadores como Cabanillas (2007), Gilbert (2006) Kryvenki *et al.* (2005) indican que la *Stevia* tiene baja germinación y una pérdida acelerada de la viabilidad a los ocho meses de cosechada, prácticamente no existen semillas viables.

Por su parte Martínez (2007) confirma que observó que las semillas de ka'a he'e/*Stevia* germinaron a los cinco días de la siembra, aunque con bajos porcentajes, por lo que asegura que no se obtuvo una respuesta favorable en cuanto a su propagación por semillas a pesar de que se hicieron los semilleros en los meses de más bajas temperaturas en el país, Felipe (1997) refieren que las temperaturas ideales para su cultivo deben oscilar entre 20-25°C.

Farías *et al.* (2013) en un trabajo realizado afirma que la germinación de ka'a he'e/*Stevia* es epigea y en los análisis de germinación, el primer conteo se debe realizar entre los 5 y 7 días de realizada la siembra y el mayor porcentaje germinativo se da entre los 8 y 10 días de realizada la siembra. Semillas conservadas a 4°C mantienen su viabilidad transcurrido los 8 meses desde la cosecha. El poder germinativo mínimo fue de 41% y el máximo de 46%.

Shahverdi *et al* (2019) en un trabajo realizado para verificar los efectos de los tratamientos de luz y temperatura sobre germinación y rasgos fisiológicos de la plántula de ka'a he'e/*Stevia* encontró que, al aumentar la temperatura a 25°C, aumentaron el porcentaje y la tasa de germinación, la longitud de las plántulas y el índice de vigor. Los resultados mostraron que el aumento de la temperatura a 20°C causó la homogeneidad del tiempo de germinación en la semilla de ka'a he'e/*Stevia*.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

- El mayor porcentaje de germinación fue alcanzado entre las temperaturas de 20 y 25°C, en la segunda cosecha realizada en el mes de abril.
- La temperatura no afecta a las variables velocidad de germinación e Índice de velocidad de germinación.

- Las cosechas se comportaron de forma similar con bajo porcentaje de germinación, siendo la de menor calidad la del invierno.
- Se recomienda realizar las pruebas de calidad inmediatamente después de las cosechas, realizar investigaciones con temperaturas alternadas entre 20 y 35°C y utilizar las cosechas de verano si es necesaria la producción de semillas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdullateef, RA; Osman, M. 2012. Efectos de las longitudes de onda de la luz visible sobre la germinabilidad de las semillas de *Stevia rebaudiana* Bertoni. *International Journal of Biology* 3(4): 83-91.
- Antuna, O; Rincón F; Gutiérrez, E; Ruiz, N; Bustamante, L. 2003. Componentes genéticos de caracteres agronómicos y de calidad fisiológica de semillas en líneas de maíz. Chapingo, ME. *Revista Fitotecnia Mexicana* 26(1): 11-17.
- Aramendiz, H; Cardona, C; Jarma, A; Robles, J; Montalván, R. 2007. Efectos del almacenamiento en la calidad fisiológica de la semilla de berenjena (*Solanum melongena* L.). Facultad de Ciencias Agrarias. Bogotá, Colombia. *Revista Agronomía Colombiana* 25(1): 104-112.
- Bradford, KJ. 2004. Seed production and quality. Department of Vegetable Crop and Weed Science. University of California. Davis, United States. S.e 134 p.
- Cabanillas, C. 2007. Influencia de las condiciones de almacenamiento sobre la calidad de la semilla de *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni. In. II WOCMAP Congress Medicinal and Aromatic Plants, Part 3: Agricultural Production, Post-Harvest Techniques, Biotechnology. Mendoza, Argentina. *ISHS Acta Horticulturae* 502: 10 p.
- Casaccia, J; Alvarez, E. 2008. Recomendaciones técnicas para una producción sustentable ka'a he'e. (*Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni) en el Paraguay. Manual de técnico. Caacupé, Paraguay, Ministerio de Agricultura y Ganadería. 83 p.
- Carrascal, R.H. 2011. Manual de cultivo de la stevia para agricultores (en línea) Retrieved from. Asociación Española de *Stevia Rebaudiana*, Madrid, España. 15 p. Consultado 10 may. 2018. Disponible en <http://www.stevia-asociacion.com>
- Contreras, M. 2012. Germinación de semillas de especies nativas de los pastizales del altiplano del norte de México. Tesis M.Sc. Nuevo León,

- México. Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Forestales. 46 p.
- Da Silva, CB; Barbosa, RM; Viera, RD. 2012. Evaluating Sunn Hemp (*Crotalaria juncea*) Seed Viability Using de tetrazolium Tes. Seed technology. 34 (2): 263-272.
- Dujak, C; Lopez, Y; Delmas, G; Araujo, C. 2010. Estudios preliminares micrográficos e histoquímicos en hojas de *Jungia floribunda* Less. (Asteraceae), de uso medicinal. Revista Steviana (2):3-11.
- Duran, JM; Perez-Garcia. 1984. Aspectos fisiológicos de la germinación de las semillas. E.T.S.I.A. Madrid, España, Universidad Politécnica de Madrid, 245 p.
- Fariás, G; Otto, B; Marse, M. 2007. Evaluación de las características germinativas de *Stevia rebaudiana* bert. “yerba dulce “o “ka’á-he’ê”. Asteraceae: avance en la producción vegetal y animal del NOA. Entre Ríos, Argentina. set 454-460
- Felippe, GM. 1997. *Stevia rebaudiana* Bert. uma revisao Azucaá; Erva doce; Esteviosideo. Ciência e Cultura 29 (11): 1240-1248.
- Ferguson, J. 1995. An introduction to seed vigour testing. Seed Vigour Testing. Zurich. Suiza. s.e.14 p.
- Finch-Savage, WE. 2004. The use of population-based threshold models to describe and predict the effects of seedbed environment on germination and seedling emergence of crops. Seed physiology: applications to agriculture. Haworth Press (eds.) B. Arnold y R.L. Sánchez., New York, United States. 96 p.
- Fontao, O; Candeira, A; Martinez, L; Melhoranca, L; Maeda, S, Fietz,C; Urchei, M; Arantes, A; Meneguetti, F. 2004. Sistemas de produção. Estevia. Eds. O. Fontao; A. Candeira, L. Martinez. Dourados, Brasil. Embrapa Agropecuaria Oeste. 55 p.
- Goettemoeller, J; Ching, A. 1999. Germinación de semillas de *Stevia rebaudiana*. Perspectivas sobre nuevo cultivos y nuevos usos (en línea). Consultado 25 jun. 2018. Disponible en <http://www.lni.unipi.it/stevia/stevia/v4-510.htm>
- Gibert, M. 2006. Grandes alternativas de la *Stevia* o ka’á he’ê. Recopilación de datos (en línea). Consultado 20 mar. 2017. Disponible en <https://www.abc.com.py/edicion-impresa/suplementos/abc-rural/kaa-he---dr-p-m-gibert-1622913.html>
- Hadas, A. 2004. Seedbed preparation: the soil physical environment of germinating seeds. (eds.). Arnold, B; RA. Sanchez. Handbook of Seed Physiology: Applications to Agriculture. Food Product Press, New York, United States. p. 3-49.
- Hampton, J; Coolbear, P.1990. Potential versus actual seed performance: can vigour testing provide an answer. Seed Science and Technology, Zurich. Suiza 18 (2) :215-228 p.
- ISTA (International Seed Testing Association) 1995. Handbook of vigor test methods 2 ed. Zurich, Suiza, Asociación Internacional de Pruebas de Semillas.117 p.
- _____. 2003. Handbook on Seedlings Evaluation. Ed. D. Ronald. 3 ed. Basserdorf, Suiza, Asociación Internacional de Pruebas de Semillas. 300 p.
- _____. 2005. Handbook of Method Validation P.O. Zurich, Suiza, Asociación Internacional de Pruebas de Semillas. 230 p.
- _____. 2012. Reglas Internacionales para el Análisis de semillas. Semilla, ciencia y tecnología. Rules for Seed Testing Zurich, Suiza, Asociación Internacional de Pruebas de Semillas. 433 p.
- Jarma, A; Rengifo, T; Araméndiz-Tatis, H. 2006. Fisiología de estevia (*Stevia rebaudiana*) en función de la radiación en el Caribe colombiano. II. Análisis de crecimiento. Agronomía Colombiana, 24 (1): 38–47.
- Jordan, F. 1984. Propagación vegetativa por secciones del tallo o esquejes en ka’á he’ê. Ministerio de Agricultura y Ganadería. Boletín de Investigación 27. Asunción, Paraguay. 28 p.
- Kryvenki, M; Domínguez, M; Guerrero, D; Acosta, A. 2005. Desarrollo del cultivo de *Stevia rebaudiana* para la región central de misiones. Memoria Institucional Centro Regional Misiones (en línea). Consultado 28 agos. 2017. Disponible en <http://procadisaplicativos.inta.gov.ar/cursosautoaprendizaje/stevia/11.html>
- Maguire, JD. 1962. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergences and vigor. Crop Science (2):176-177.
- MAPA (Ministerio de Agricultura, Pecuaria y Abastecimiento) 2009. Regras para análise sementes. Ministerio de agricultura, pecuaria y abastecimiento. Brasilia, Brasil. 35 p.
- Martínez, M. 2015. *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni: una revisión. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA). Revista Cultivos Tropicales (36): 5-15

- Melillo, P. 2000. Agrotecnología para el cultivo de stevia o hierba dulce, in Fundamentos de Agrotecnología de Plantas Medicinales Iberoamericanas. En: eds. Martínez, JV; Yesed, HY; Cáceres A. Convenio Andrés Bello, Santafé de Bogotá, Colombia. 441 p.
- Monteiro, R. 1982. Taxonomía y biología de la reproducción de la *Stevia rebaudiana* Bertoni. In. Seminario Brasileiro sobre *Stevia rebaudiana* Bertoni.) (1, 1982, Sao Paulo, Brasil.) Instituto de Tecnología de Alimentos. Memoria. Sao Paulo, Brasil. 45 p.
- Murillo, C; Hernández, M; Martínez, L. 2018. Evaluación de la viabilidad de semillas de 17 especies tropicales altoandinas por la prueba de germinación y la prueba de tetrazolio. *Revista Unal* 40(2):366-382.
- Oddone, B. 1999. Como crecer Stevia. Guarani Botanicals. Inc, Pawcatuck Connecticut. 30 p.
- OMS. 1992. Métodos de control de calidad de Plantas Medicinales (en línea). Consultado 12 abr. 2017. Disponible en <https://apps.who.int/medicinedocs/pdf/whozip58s/whozip58s.pdf>
- Powell, A. 1995. The controlled deterioration tests. In Congress of The International Seed Testing Association. (24, Copenhagen, Suiza) Seed vigour testing: contributions to a seminar. International Seed Testing Association. p. 73-87
- Purohit, M; Bish, S. 2008. Use of TTC for Interpretation of viability of seeds of *Albizia procera* (ROXB) Benth. *Indian For* 125 (8): 828-83.
- Probert, RJ. 2000. The role of temperature in the regulation of seed dormancy and germination. (ed). Fenner, M. *Seeds: The Ecology of Regeneration in Plant Communities*. 2 ed. Wallingford, Gran Bretaña, "s.e". 292 p.
- Rajjou, L; Duval, K; Gallardo, J; Catusse, J; Bally, C; Job. 2012. Seed germination and vigour. *Annual Review of Plant Biology* (63):507-33.
- Rodríguez, I; Adam, G; Duran, C. 2008. Ensayos de germinación y Análisis de viabilidad y vigor en semillas (en línea) Technical report. *Revista Agricultura*. 836-842. Consultado 20 abr. 2019. Disponible en <http://www.researchgate.net/publication/275328970>.
- Rojas S. 2009. Stevia, edulcorante orgánico del siglo XXI. Lima, Perú, Universidad Nacional La Molina. 391 p.
- Sagakushi, M; Tatsuiko, R; Kan, K. 1982. As pesquisas japonesas con *Stevia rebaudiana* Bertoni, e o steviosido. *Revista Ciencia e Cultura* (34) :235-248.
- Salvador, R; Sotelo, M; Paucar, L. 2014. Estudio de la Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) como edulcorante natural y su uso en beneficio de la salud. *Revista Scientia Agropecuaria* 5(3):157-163.
- Shahverdi, M; Omid, H; Mosanaiey, M; Pessarakli, S.E. Mousavi, M. Ghasemzadeh. 2019. Effects of light and temperature treatments on germination and physiological traits of *stevia* seedling. *rebaudiana* Bertoni) (en línea). *Journal of Plant Nutrition*. Consultado 10 jul. 2019. Disponible en <https://doi.org/10.1080/01904167.2019.1567781> Published online: 25 Apr
- Taiariol, D. 2010. Caracterización de la *Stevia rebaudiana* Bertoni (en línea). Argentina. Consultado 01 may. 2018. Disponible <http://www.ilustrados.com/publicaciones/EpyplIEZEVENPGeSRF.p>
- Varela, S; Arana, V. 2011. Latencia y germinación de semillas. Tratamientos pregerminativos. Unidad de Genética Ecológica y Mejoramiento Forestal, INTA EEA Eds. S. Varela, S. y A. Aparicio, 3 ed. Bariloche, Argentina. s.e 10 p.